



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

EVALUACIÓN DE MOSCA DOMÉSTICA (*Musca domestica*, LINNAEUS 1758)
COMO VECTOR DE BACTERIAS CON RESISTENCIA FENOTÍPICA Y
GENOTÍPICA (MCR-1) A COLISTINA EN BASURALES DE DOS MERCADOS DE
SANTA ANITA, LIMA, PERÚ

Línea de investigación:

Salud pública

Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología

Autor:

Alarcón Calle, Miguel Angel

Asesora:

Rodrigo Rojas, María Elena
(ORCID: 0000-0002-1555-4036)

Jurado:

Iannacone Óliver, José Alberto
Bohorquez Meza, Isabel Doris
Mayanga Herrera, Ana Lucía

Lima - Perú

2023



EVALUACIÓN DE MOSCA DOMÉSTICA (*Musca domestica*, LINNAEUS 1758) COMO VECTOR DE BACTERIAS CON RESISTENCIA FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA (MCR-1) A COLISTINA EN BASURALES DE DOS MERCADOS DE SANTA ANITA, LIMA, P

INFORME DE ORIGINALIDAD

11%

INDICE DE SIMILITUD

10%

FUENTES DE INTERNET

4%

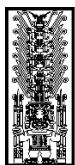
PUBLICACIONES

1%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	2%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
3	www.scielo.org.pe Fuente de Internet	1%
4	es.scribd.com Fuente de Internet	1%
5	Alejandro Fenollar Penadés. "Estudio de la transmisión de resistencias a antibióticos mediante métodos moleculares en el sector avícola y su implicación para la salud pública", Universitat Politecnica de Valencia, 2020 Publicación	<1%
6	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1%



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

EVALUACIÓN DE MOSCA DOMÉSTICA (*Musca domestica*, LINNAEUS 1758) COMO VECTOR DE BACTERIAS CON RESISTENCIA FENOTÍPICA Y GENOTÍPICA (MCR-1) A COLISTINA EN BASURALES DE DOS MERCADOS DE SANTA ANITA, LIMA, PERÚ.

Línea de Investigación:

Salud Pública

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Autor(a):

Alarcón Calle, Miguel Angel

Asesor(a):

Rodrigo Rojas, María Elena

(ORCID: 0000-0002-1555-4036)

Jurado:

Iannacone Óliver, José Alberto

Bohorquez Meza, Isabel Doris

Mayanga Herrera, Ana Lucía

Lima-Perú

2023

Dedicatoria

A Dios. A mis padres Gumercinda y Jesús.

A mis hermanas Diana y Aurora.

Agradecimientos

A mi asesora Mg. María Elena Rodrigo Rojas, por guiarme en el desarrollo de este trabajo. A mi equipo de Biología Molecular Mg. Pool Marcos Carbajal y Blgo. José Luis Yareta Yareta, por su paciencia, dedicación, confianza y apoyo incondicional durante todo el proceso y a mi amigo Víctor Osorio Guevara por su papel crucial en la realización de esta tesis,

ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN	9
1.1. Descripción y formulación del problema	9
1.2. Antecedentes.....	10
1.3. Objetivos	12
1.3.1. Objetivo General	12
1.3.2. Objetivos Específicos	12
1.4. Justificación.....	12
1.5. Hipótesis.....	13
1.5.1. Hipótesis nula.....	13
1.5.2. Hipótesis alterna.....	13
II. MARCO TEÓRICO.....	14
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación	14
2.1.1. Musca domestica	14
2.1.2. Vector	14
2.1.3. Antibióticos.....	14
2.1.4. Polimixinas	15
2.1.5. Colistina	15
2.1.6. Resistencia bacteriana.....	15
2.1.7. Transferencia horizontal de genes	15
2.1.8. Plásmido.....	16
2.1.9. Tipos de resistencia a colistina.....	16
2.1.9.1. Resistencia intrínseca.....	17
2.1.9.2. Resistencia adquirida.....	18

2.1.10. Mecanismos de resistencia a colistina	18
2.1.10.1. Mecanismos de resistencia intrínseca	18
2.1.10.2. Mecanismos de resistencia adquirida	18
A. Modificación de lipopolisacárido región lípido A.	18
B. Resistencia plasmídica mediada por gen móvil de colistina (mcr-1).	
2.1.11. Medios para el desarrollo de microorganismos	19
2.1.11.1. Agar Macconkey.	20
2.1.11.2. Caldo triptona soya.....	20
2.1.12. Pruebas bioquímicas	20
2.1.13. Microscan.....	21
2.1.14. Técnica de elución de discos de colistina	21
2.1.15. Reacción en cadena de polimerasa	22
2.1.16. Electroforesis.....	22
III. MÉTODO.....	23
3.1. Tipo de Investigación.....	23
3.2. Ámbito temporal y espacial.....	23
3.3. Variables	23
3.3.1. Variable Dependiente	23
3.3.2. Variables Independientes.....	23
3.4. Población y muestra	24
3.5. Instrumentos	25
3.6. Procedimientos	25
3.6.1. Colecta de las moscas	25
3.6.2. Aislamiento e identificación bacteriana	26
3.6.3. Evaluación de la resistencia bacteriana a colistina.....	26
3.6.4. Extracción de ADN	27

3.6.5. Detección de resistencia a colistina mediado por el gen Mcr-1	27
3.6.6. Electroforesis	28
3.7. Análisis de datos	29
3.8. Consideraciones éticas	29
IV. RESULTADOS.....	30
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	36
VI. CONCLUSIONES.....	41
VII. RECOMENDACIONES	42
VIII.REFERENCIAS	43
IX. ANEXOS	51

RESUMEN

Introducción: Las enfermedades transmitidas por vectores, como la *Musca domestica*, son una preocupación global. Este insecto es un vector de bacterias responsables de enfermedades humanas y veterinarias, incluyendo Shigelosis y Mastitis. La resistencia bacteriana es una amenaza grave debido al uso indebido de antibióticos, siendo una de las 10 principales amenazas según la Organización Mundial de la Salud. La colistina, un antibiótico de último recurso, enfrenta desafíos debido a la aparición de genes resistentes, como mcr-1 al mcr-10.

Objetivo: Evaluar a *Musca domestica* como vector de bacterias con resistencia fenotípica y genotípica (mcr-1) a colistina en basurales de dos mercados de Santa Anita, Lima, Perú.

Metodología: Se empleó 60 moscas provenientes de basurales de mercados, la captura fue mediante platos adhesivo y cebo de pollo, para su enriquecimiento se utilizó caldo Triptona soya y para su aislamiento agar Macconkey. Con respecto a su identificación se utilizaron pruebas bioquímicas y el sistema automatizado MicroScan®, la extracción de ADN fue mediante kit comercial y la detección del gen mcr-1 mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR, sus siglas en inglés). **Resultados:** Se aislaron 74 bacterias en total, llegándose a evidenciar que *E. coli* (24.3%), fue la bacteria con mayor frecuencia de aislamiento, el 79.7% fue resistente a colistina con CMI > 4 µg/ml. Finalmente *Klebsiella oxytoca*, *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* fueron las bacterias portadoras del gen mcr-1. **Conclusiones:** *Musca domestica* es vector de bacterias con resistencia fenotípica y genotípica (mcr-1) a colistina.

Palabras clave: *Musca domestica*, colistina, gen mcr-1.

ABSTRACT

Introduction: Vector-borne diseases, such as the *Musca domestica*, are a global concern. This insect is a vector of bacteria responsible for human and veterinary diseases, including Shigellosis and Mastitis. Bacterial resistance is a serious threat due to the misuse of antibiotics, being one of the top 10 threats according to the World Health Organization. Colistin, an antibiotic of last resort, faces challenges due to the emergence of resistance genes, such as mcr-1 to mcr-10. **Objective:** To evaluate *Musca domestica* as a vector of bacteria with phenotypic and genotypic resistance (mcr-1) to colistin in rubbish dumps of two markets in Santa Anita, Lima, Peru. **Methodology:** 60 flies from market dumps were used, the capture was by means of adhesive plates and chicken bait, for their enrichment Tryptone soya broth was used and for their isolation Macconkey agar, regarding their identification, biochemical tests and the automated system were used. MicroScan®, DNA extraction was using a commercial kit and the mcr-1 gene was detected by polymerase chain reaction (PCR, its acronym in English). **Results:** A total of 74 bacteria were isolated, becoming evident that *E. coli* (24.3%) was the bacterium with the highest frequency of isolation, 79.7% were resistant to colistin with MIC > 4 µg/ml. Finally, *Klebsiella oxytoca*, *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* were the bacteria that carried the mcr-1 gene. **Conclusions:** *Musca domestica* is a vector of bacteria with phenotypic and genotypic resistance (mcr-1) to colistin.

Keywords: *Musca domestica*, colistin, mcr-1 gene.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. Descripción y formulación del problema

Las enfermedades de transmisión vectorial son consideradas como una de las principales preocupaciones a nivel mundial, debido a que no solo afectan a la salud humana sino también a la economía de los países. Vectores como las pulgas, los piojos, los mosquitos, las garrapatas, moluscos, moscas, entre otros, son responsables de la transmisión de organismos patógenos como virus, parásitos y bacterias. Se estima anualmente, más de 700 000 decesos a nivel mundial provocados por estos microbios (Organización Mundial de la Salud [OMS,2020]).

Musca domestica pertenece al orden Díptera y a la familia Muscidae, es un tipo de insecto diurno conocido por ser cosmopolita, sinantrópico. Debido a su tipo de alimentación pueden ser omnívoras y/o coprófagas, y son capaces de transportar varios microorganismos valiéndose de sus su morfología como la superficie corporal, las patas, alas, probóscide y además mediante un proceso de regurgitación (Nazari et al., 2017).

Considerado como uno de los vectores de mayor importancia médica y veterinaria, ya que, está relacionada con la propagación de enfermedades ligadas como la Shigelosis, la Tifoidea, el Cólera, la Disentería infantil, Salmonelosis entre otros y en el ámbito veterinario como la Mastitis, Anasplasmosis y la diarrea viral bovina (Moon, 2019).

La resistencia bacteriana sigue siendo un tema de preocupación mundial, debido a que representa un peligro para la salud y el desarrollo humano. Esto se debe al uso indebido e inadecuado de los antibióticos, lo que dificulta el tratamiento y conduce a la proliferación de enfermedades, así como a la aparición de bacterias genéticamente multirresistentes y extremadamente resistentes. Se menciona que es una de las 10 amenazas más letales para la vida humana (OMS, 2021).

Debido a ello se han buscado nuevas alternativas terapéuticas, siendo una de ellas la colistina, considerado como un antibiótico de último recurso. Sin embargo, en los últimos años, el uso de este fármaco se ha visto comprometido debido a la aparición de genes móviles mediados por plásmido que confieren resistencia a este antibiótico como el caso de los genes *mcr-1*, *mcr-2* hasta *mcr-10* (Zhang et al., 2018).

Por lo mencionado anteriormente, me permitió formular la siguiente pregunta, ¿Será *Musca domestica* vector de bacterias con resistencia fenotípica y genotípica (*mcr-1*) a Colistina en basurales de dos mercados de Santa Anita, Lima, Perú?.

1.2. Antecedentes

La Colistina o también llamada polimixina E, fue un antibiótico muy utilizado desmedidamente en la medicina veterinaria para el tratamiento de infecciones y producción de carne para el consumo humano. Hace 50 años aproximadamente fue introducido a la práctica clínica, sin embargo, tuvo reacciones adversas como neurotoxicidad y nefrotoxicidad, por lo que, fue retirado para su uso terapéutico. En los último 30 años fue reintroducido por el incremento de resistencia de bacterias gramnegativas a los antibióticos y la falta de nuevas opciones farmacológicas contra ellas (Aguayo et al., 2016).

El estudio realizado en China 2015 sobre la resistencia antibiótica de *Escherichia coli* en animales para el consumo humano se encontró por primera vez a nivel mundial, resistencia a colistina a través de la transferencia horizontal de genes mediada por el gen *mcr-1*, como resultado se obtuvo resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* y especies del orden Enterobacterales, como *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* (Liu et al., 2016).

Un total de 140 moscas domesticas fueron capturadas mediante el uso de una red entomológica en siete ciudades de Mymensingh, Bangladesh donde se aislaron tres tipos de especies bacterianas que fueron identificadas por medios de cultivos y moleculares. El objetivo de este estudio fue detectar bacterias resistentes a los antimicrobianos mediante la técnica

difusión en disco y evaluar sus genes de resistencia mediante PCR. Como resultado, se obtuvo mayor predominancia de *Staphylococcus aureus* (78,6%), *Salmonella spp* (66,4%), y *E. coli* (51,4%) que mostraron resistencia a penicilina, tetraciclina, gentamicina, azitromicina, amoxicilina y en el caso específico a *E. coli*, a la colistina. Finalmente, la prevalencia de los genes de resistencia fue la siguiente: tetA 30%, tetB 20%, mecA 14% y mcr-3, un gen de resistencia a colistina, con un 20% (Akter et al., 2020).

Carramaschi (2019) tuvo como objetivo aislar bacterias resistentes a los antibióticos en dípteros muscoides en los alrededores de un hospital de Rio de Janeiro en Brasil. Se lograron aislar 197 especies bacterianas mediante la técnica de MALDITOF-MS. Estas especies incluyeron a *E. coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas spp*, *Proteus spp*, *Acinetobacter spp*, *Serratia spp*, entre otros. Estos organismos fueron sometidos a diferentes antibióticos utilizando la técnica de difusión en discos y elución de disco para colistina, seguido de un análisis de los genes de resistencia mediante la técnica de PCR. Con respecto a colistina, se evidenció fenotípicamente su sensibilidad y en cuanto a los genes mcr-1 y mcr-2, los resultados fueron negativos.

Estudios realizados por Ugarte et al. (2018) y Zárata et al. (2021) en Perú, evidenciaron resistencia a la colistina en especies bacterianas multidrogoresistentes, como *E. coli*, *K. pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Estas bacterias fueron aisladas de pacientes ambulatorios de un centro hospitalario privado y de tres centros hospitalarios de Lima respectivamente. Para la identificación fenotípica, se utilizó la técnica de elusión de discos, que detectó resistencia para ambos estudios. Además, para identificar el gen móvil mcr-1, se empleó la técnica de PCR, que dio resultados positivos en siete de las diez muestras en la investigación de Ugarte. En contraste, en el estudio de Zárata, no se detectó la presencia de este gen. Es importante destacar que en el Perú aún no se ha reportado ninguna investigación

relacionada con vectores y sus bacterias portadoras de genes de resistencia y mucho menos con mosca doméstica.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Evaluar a *Musca domestica* como vector de bacterias con resistencia fenotípica y genotípica (*mcr-1*) a colistina en basurales de dos mercados de Santa Anita, Lima, Perú.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Identificar las especies bacterianas presentes en *Musca domestica*.
- Determinar el perfil de resistencia bacteriana a colistina aisladas de *Musca domestica*.
- Identificar el gen *mcr-1* en bacterias aisladas de *Musca domestica*.

1.4. Justificación

Musca domestica (Mosca doméstica) cumple un papel importante al ser considerada como uno de los vectores de transmisión de enfermedades, debido a ser portadora de una amplia variedad de patógenos como bacterias, hongos, virus y parásitos. Este suceso muestra serias preocupaciones desde un punto de vista clínico y epidemiológico (OMS, 2020).

La capacidad de *M. domestica* para transportar patógenos, mecánicamente, a través de sus extremidades, alas, exoesqueleto y piezas bucales, así como como biológicamente, a través de su tracto digestivo, lo que la convierte en un agente de diseminación de enfermedades altamente efectivo (Graczyk, 2001).

Estudios como el de Yin et al. (2022) y Förster et al. (2007), han demostrado que la mosca puede transportar más de 130 microbios, incluyendo bacterias, hongos y parásitos. Entre las bacterias de importancia clínica resaltan, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp*, *Shiguella spp*, *Proteus spp*, *Staphylococcus spp*, *Enterococcus spp*, muchas de las cuales muestran resistencia o multiresistencia a los antibióticos. Esto plantea un riesgo

significativo para la propagación de enfermedades en hábitats, superficies y alimentos tanto para animales y humanos.

La colistina es un antibiótico de último recurso que se utiliza en el tratamiento de enfermedades generadas por bacterias gram negativas multirresistentes. Es preocupante el hecho de que la resistencia a colistina esté en aumento debido al uso inadecuado que se le ha dado. Lamentablemente en los últimos años se han reportado genes móviles resistentes a colistina por lo que aumenta más esta preocupación si se sigue evidenciando, debido a la importancia que se le da a este antibiótico (Veldman et al., 2016).

Dada la gravedad de la situación y la ausencia de investigaciones previas en nuestro entorno, este estudio busca arrojar luz sobre un problema crítico en la salud pública. Los hallazgos obtenidos tendrán un impacto significativo al mejorar nuestra comprensión de cómo la *M. domestica* puede estar contribuyendo a la propagación de bacterias resistentes a los antibióticos, particularmente a colistina.

1.5. Hipótesis

1.5.1. Hipótesis nula

Mosca doméstica (*Musca domestica*), no es vector de bacterias con resistencia fenotípica y genotípica (*mcr-1*) a colistina en basurales de dos mercados de Santa Anita, Lima, Perú.

1.5.2. Hipótesis alterna

Mosca doméstica (*Musca domestica*), es vector de bacterias con resistencia fenotípica y genotípica (*mcr-1*) a colistina en basurales de dos mercados de Santa Anita, Lima, Perú.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1. *Musca domestica*

Mosca doméstica (*Musca domestica*) pertenece a la familia Muscidae y orden díptera. Es la especie no picadora, cosmopolita, coprófaga y endófila capaz de vivir en espacios compartidos por animales y seres humanos como restaurantes, vivienda, granjas, hospitales, etc. Se considera de importancia clínica y veterinaria debido a su capacidad para transmitir patógenos a partir de materia de descomposición y de heces, pudiendo ser vector de especies bacterianas multirresistentes siendo un gran peligro para la salud humana (Awache & Farouk, 2016; Galal et al., 2019).

2.1.2. *Vector*

Organismo vivo que transmite enfermedades de persona a persona o de animal a persona, portando organismos patógenos como bacteria, virus y parásitos, siendo capaz de reproducirse en el mismo organismo para luego transmitirlos a otros nuevos hospederos. Estos organismos pueden ser hematófagos o no (OMS, 2020).

2.1.3. *Antibióticos*

Sustancias producidas por bacterias u hongos o en algunos casos sintetizados químicamente, que tienen la capacidad de destruir o dilatar la proliferación bacteriana mediante mecanismos propios de cada familia a la que pertenecen. Pueden ser bactericidas, es decir, aquellos que tiene la capacidad de eliminar bacterias y bacteriostáticos, que son aquellos que inhiben la multiplicación y proliferación bacteriana (Organización Panamericana de la Salud, [OPS,2019]).

2.1.4. Polimixinas

Dentro de este grupo de antibióticos, se encuentran las polimixinas de la A hasta la E, siendo este último conocido como Colistina, cabe mencionar tanto la polimixina B como la colistina son las únicas que se utilizan a nivel clínico y veterinario, La diferencia entre ellas radica únicamente en la parte estructural de su anillo peptídico, específicamente en un solo aminoácido: La colistina contiene leucina y la fenilalanina en polimixina B (Catry et al., 2015; Poirel et al., 2017).

2.1.5. Colistina

La colistina también conocida como Polimixina E, es un antibiótico utilizado contra las bacterias gram negativas. Es producida por *Paenibacillus polymyxa* y fue descrito por primera vez en el año 1947 por investigadores japoneses. En cuanto a su conformación química, está conformada por cadenas polipeptídicas cíclicas y posee un anillo heptapéptido y es una molécula anfipática (Falagas & Kasiakou, 2005).

2.1.6. Resistencia bacteriana

Es la capacidad que tienen las bacterias de eludir a los antibióticos cuando se exponen a través de mecanismos propios, que varían según el tipo de antibiótico. Esto hace que el medicamento se vuelva y la enfermedad persista. Cuando las bacterias desarrollan resistencia a múltiples fármacos, se les considera multirresistentes (OMS, 2021).

2.1.7. Transferencia horizontal de genes

La transferencia horizontal de genes se caracteriza por el proceso de transferir material genético de una bacteria a otra, independientemente sin importar si son de la misma especie. Este proceso se considera de gran importancia en el desarrollo bacteriano, ya que, al adquirir nueva información genética, la bacteria obtiene una ventaja selectiva sobre otras bacterias. Por lo tanto, este es un papel crucial en la generación de resistencia a los antibióticos (Kaiser, 2019).

En general las bacterias tienen la capacidad de transferir sus genes de manera horizontal mediante diversos mecanismos, como la conjugación, la transducción, la transformación y la transposición del material genético. En estos procesos, intervienen elementos móviles que son responsables de llevar a cabo dichos mecanismos, como los plásmidos, los integrones, los transposones y también la presencia de bacteriófagos (Burmeister, 2015).

2.1.8 Plásmido

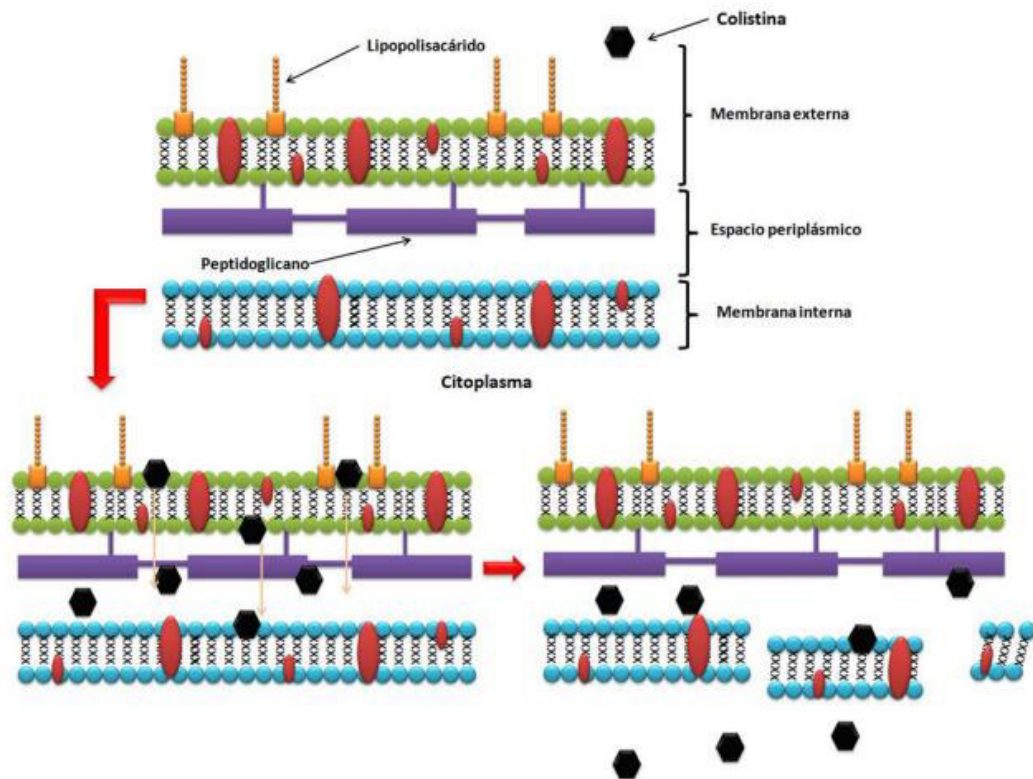
Los plásmidos son estructuras extracromosómicas formadas por ADN de cadena doble y circular que puede ser transmitidos de una bacteria a otra y replican su material genético de manera independiente. Existen dos tipos de plásmidos: los móviles, que pueden adquirir el material genético, como los transposones, y los conjugativos, que tienen la capacidad de desplazarse sin depender de otros elementos. En la gran mayoría de los casos, estos últimos son responsables de la dispersión de genes resistentes a antibióticos en bacterias gramnegativas (Li et al., 2019).

2.1.9. Tipos de resistencia a colistina

La colistina es un antibiótico de origen lipídico y de naturaleza catiónica que fue descubierta en 1947. Su acción de este antibiótico se dirige a nivel de la membrana lipídica de las bacterias gramnegativas, específicamente al lipopolisacárido (LPS), cuando se une de manera electrostática a su diana, que es la región del lípido A, provocando la liberación de iones catiónicos como el Mg^{+2} y el Ca^{+2} , lo que genera una apertura en la membrana externa. Esto resulta en cambios osmóticos en la región del periplasma, lo que finalmente conduce a la lisis bacteriana (Li et al., 2019). (Figura 1).

Figura 1

Ilustración gráfica sobre el mecanismo de acción de Colistina



Nota: Tomada de Iglesias, 2018.

2.1.9.1. Resistencia intrínseca. Es una cualidad específica que presenta una determinada especie, género o familia de bacterias antes de entrar en contacto con un antibiótico, lo que les confiere una ventaja competitiva sobre otros organismos bacterianos. Géneros principales como *Providencia spp*, *Morganella spp*, *Proteus spp*, *Serratia spp* y *Burkholderia spp* son resistentes a la colistina (Fernández et al., 2003; Poirel et al., 2017).

2.1.9.2. Resistencia adquirida. Este tipo de resistencia puede manifestarse de dos formas: mediante mutación o por la transferencia de material genético extracromosómico por parte de las bacterias, En el primer caso, ocurre a través de una transferencia vertical, mientras que en el segundo caso, se produce por medio de la transmisión horizontal de genes, facilitadas por plásmidos, integrones y transposones (Fernández et al., 2003).

En el caso de colistina la transmisión de material extracromosómico se produce de manera horizontal, mediada por un plásmido relacionado al gen resistencia móvil a colistina (*mcr-1*), Especies como *E. coli*, *K. pneumoniae* y *Salmonella spp* han mostrado este tipo de resistencia (OPS Y OMS, 2016).

2.1.10. Mecanismos de resistencia a colistina

2.1.10.1. Mecanismos de resistencia intrínseca. *Serratia marcescens* y *Proteus mirabilis* son algunas de las especies que presentan esta resistencia, la cual está mediada por la expresión de dos tipos de genes, conocidos como *arnBCADTEF* y *eptB*. Estos genes están involucrados en la adición de grupos catiónicos a la estructura del lipopolisacárido (LPS) de las gram negativas. Esto resulta en un aumento de la carga negativa en la membra del LPS, que es el objetivo principal de la colistina. Como resultado, se reduce la afinidad de la colistina por la membrana , lo que hace que estas cepas sean naturalmente resistentes al antibiótico (Ahmed et al., 2020; Falagas & Kasiakou, 2005).

2.1.10.2. Mecanismos de resistencia adquirida.

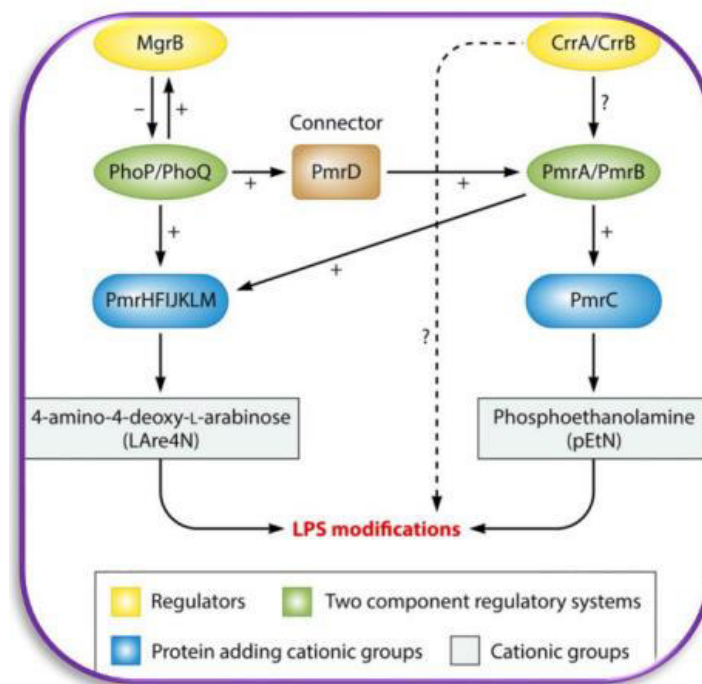
A. Modificación de lipopolisacárido región lípido A. Este tipo de modificación ocurre mediante la adición de dos grupos catiónicos, conocidos como 4-amino-4-desoxy-L-arabinosa (L-Ara4N) y la fosfoetanolamina (PEtn), a la membrana lipídica, lo que resulta en una modificación de la región lípido A en el lipopolisacárido. Todo este proceso de modificación está regulado por dos sistemas de componentes denominados PhoPQ y PmrAB. Como

resultado de esta modificación, se reduce la carga negativa en la membrana del LPS, lo que conduce a la resistencia a la colistina (Liu et al., 2016; Poirel et al., 2017).

B. Resistencia plasmídica mediada por gen móvil de colistina (*mcr-1*). Este mecanismo tiene como objetivo alterar el blanco de la colistina al agregar una fosfoetanolamina (PEtN) transferasa, lo que resulta en una reducción de afinidad por el lípido A. Este tipo de gen puede ser transmitido a través de plásmidos que pertenecen al grupo de incompatibilidad x4(IncX4) lo que conlleva a la transmisión horizontal de genes entre bacterias gramnegativas (Gröndahl et al., 2018). (Figura 2).

Figura 2

Mecanismo de resistencia cromosómica y plasmídica a Colistina



Nota: Tomada de Rapoport, s.f.

2.1.11. Medios para el desarrollo de microorganismos

Para promover el crecimiento óptimo de las bacterias, es necesario utilizar un medio que proporcione con nutrientes y condiciones fisicoquímicas adecuadas para su desarrollo. Convencionalmente se emplean placas Petri o e tubos con un medio de cultivo específico

diseñado para satisfacer las necesidades de una determinada especie, género o familia de bacterias (Cuevas, 2009).

2.1.11.1. Agar Macconkey. Un ejemplo de medio de cultivo ampliamente utilizado, desarrollado entre los años 1900 a 1951, es ligeramente selectivo para bacterias gramnegativas. Este medio permite el crecimiento de todas las especies del orden Enterobacterales debido a la presencia de sales biliares y cristal violeta, que inhiben las bacterias grampositivas y la flora acompañante. Las peptonas proporcionan los nutrientes necesarios, mientras que el rojo neutro sirve como indicador. La lactosa es el azúcar fermentable y el agar actúa como agente solidificante. La diferenciación bacteriana se logra a través de la fermentación de la lactosa, lo que provoca un cambio de color del indicador de rojo a colonias rosadas (Becton Dickinson, 2014).

2.1.11.2. Caldo triptona soya. Otro medio ampliamente utilizado es el que se emplea para el enriquecimiento y crecimiento de la mayoría de los microorganismos exigentes. Contiene triptona y peptona de soya, que son componentes esenciales responsables de proporcionar la base nutricional necesaria para los microorganismos. Estos ingredientes aportan nutrientes ricos en vitaminas, aminoácidos libres, minerales e hidratos de carbono (Lifeder, 2023).

2.1.12. Pruebas bioquímicas

Las pruebas bioquímicas son aquellas que permiten detectar características metabólicas de las bacterias. Ejemplos de estas pruebas incluyen Lisina Hierro Agar, Tiple azúcar Hierro agar, Citrato agar, Urea agar, Motilidad Indol Ornitina agar entre otras, La mayoría de estas requieren entre 18 a 24 horas de incubación par su lectura, aunque algunas pueden determinarse en un tiempo más corto, ya que, permiten evaluar enzimas preformadas lo que acelera su lectura (Bou et al., 2011).

2.1.13. *Microscan*

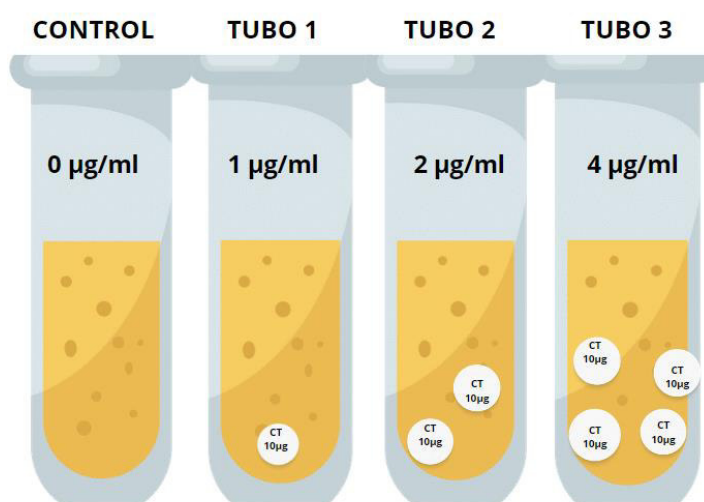
Es un sistema automatizado que permite llevar a cabo dos tipos de exámenes al mismo tiempo: la identificación bacteriana, tanto para especies gramnegativas, grampositivas y hongos y la prueba de sensibilidad a antibióticos mediante el método de concentración mínima inhibitoria (Beckman Coulter, 2023).

2.1.14. *Técnica de elución de discos de colistina*

Esta técnica se utiliza para medir de manera cuantitativa la actividad del antibiótico, en este caso la colistina, frente a un cultivo de bacteria. La metodología consiste en preparar cuatro tubos con caldo Muller Hinton ajustado con cationes, a los cuales se les agrega el antibiótico en diferentes concentraciones. Luego, se introduce una suspensión estandarizada de una determinada bacteria y se incuba a una temperatura adecuada, generalmente a $35^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, se determina la concentración mínima inhibitoria del antibiótico (Clinical and Laboratory Standards Institute, [CLSI, 2023]). (Figura 3 y Anexo A).

Figura 3

Representación gráfica de la técnica de Elución de Discos de Colistina



Nota: Autoría propia.

2.1.15. Reacción en cadena de polimerasa

Esta técnica molecular tiene como objetivo obtener millones de copias de un fragmento específico de ácido desoxirribonucleico (ADN) a partir de una molécula dada. En los últimos años, ha cobrado protagonismo en el diagnóstico de enfermedades mediante la identificación de microorganismos infecciosos y la detección de señales de resistencia, como los genotipos (March, 2017).

2.1.16. Electroforesis

La electroforesis es una técnica utilizada en biología y biología molecular que tiene como finalidad separar diferentes biomoléculas según su naturaleza y movilidad, como ácidos nucleicos (ADN y ARN) y proteínas, en un campo eléctrico aplicado sobre una matriz porosa. El tipo de gel utilizado para la separación depende del tipo de molécula con la que se esté trabajando; se utiliza gel de agarosa para ácidos nucleicos y gel de poliacrilamida para proteínas. Esta técnica es fundamental y se utiliza con diversos propósitos, como la visualización de material genómico, la identificación de genes de resistencia a antibióticos y el análisis de proteínas, entre otros (Montalvo & Lugo, 2016).

III. MÉTODO

3.1. Tipo de Investigación

El diseño de la investigación fue básico, transversal y descriptivo. Básico porque permite incrementar los conocimientos el panorama de este tema., transversal porque se llevó a cabo en un período específico para evaluar las variables en ese momento sin seguimiento a lo largo del tiempo y descriptivo debido a que el objetivo fue identificar la posibilidad de que las moscas domésticas puedan ser transmisoras de bacterias resistentes a antibióticos, en este caso a colistina, sin buscar alguna relación causa-efecto ni extrapolar datos a ámbitos más grandes.

3.2. Ámbito temporal y espacial

La presente investigación se realizó entre los meses de febrero a julio del 2023 en coordinación entre los laboratorios de Investigación en Biología de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional Federico Villarreal ubicada en el distrito de El Agustino y el Laboratorio de Investigación en Biología Molecular de la Escuela Profesional de Medicina Humana de la Universidad Peruana Unión ubicada en Ñaña-Chosica.

3.3. Variables

3.3.1. *Variable Dependiente*

- Resistencia fenotípica y genotípica (*mcr-1*).

3.3.2. *Variables Independientes*

- Mosca doméstica.
- Agente bacteriano.
- Lugar de colecta.

3.4. Población y muestra

La población estuvo conformada por las moscas domésticas colectadas de los basurales que se encontraron a exteriores de dos puntos seleccionados. 1) Mercado Universal (-12.042953/-76.979385). y 2) Mercado El Edén (-12.044149/-76.978691) estos ubicados en el distrito de Santa Anita, Lima, Perú (Figura 4).

La muestra estuvo conformada por 60 ejemplares de moscas domésticas (30 por cada sector) que fueron considerados en la presente investigación. Se estimó esta muestra como referencial, debido a que la investigación fue descriptiva sin necesidad de extrapolar datos.

Figura 4

Basurales a exteriores de los Mercados El Edén y Universal



Nota: Autoría propia.

3.5. Instrumentos

Instrumentos de laboratorio: Autoclave (Daihan Scientific, 2019), Balanza electrónica (H.W. Kessell, 2009), Balanza digital (Kern, 2018) Estereoscopio (Leica, 2015), Estufa de Pasteur (Mettler, 2012), Centrífuga (Labofuge 200, 2010), Cámara Fotográfica (Canon, 2018), Equipo de Electroforesis (Cleaver Scientific, 2018), Espectrofotómetro (Klab, 2019), Thermo Shaker TS-100 (Biosan, 2017), Microcentrífuga (Labnet, 2018), Microondas (Electrolux, 2019), Micropipetas de 10, 20, 200 y 1000µl (Discovery Confort, 2018), Cabina de Flujo Laminar Clase II Type A2 (Labculture, 2018), Cabina de PCR (Labculture, 2019) Incubadora de cultivos (Mettler, 2019), Termociclador T100™ (Biorad, 2017), Refrigeradora a -20°C (Electrolux, 2018), Refrigeradora (LG, 2010), Vortex V1-Plus (Biosan, 2018).

Programas de software: LabPro, Microsoft Excel 2019, Microsoft Word 2019, Gestor de referencias Mendeley Desktop y IBM SPSS Statistics 25.0.

3.6. Procedimientos

3.6.1. *Colecta de las moscas*

El muestreo de las moscas se realizó en basurales ubicados a exteriores de los dos puntos seleccionados para la presente investigación: los mercados Universal y El Edén situados en el distrito de Santa Anita, Lima, Perú. Es importante destacar que no se siguió un criterio de selección en específico. Esta selección se basó en condiciones favorables que permitieran coleccionar con mayor facilidad.

Se emplearon platos adhesivos con cebo de pollo para atraer a las moscas, inmediatamente después de haber realizado el muestreo, se trasladó al laboratorio para luego ser introducidos en tubos Eppendorf de 2 ml individualmente. Las moscas fueron sometidas a una temperatura de 0°C durante 30 min para adormecerlas, con el propósito de facilitar su manipulación para su posterior identificación. Para la caracterización de la especie se utilizaron

estructuras morfológicas tales como el tórax, abdomen y, en particular, la venación del ala derecha (Anexo B) que permitió identificar a *M. domestica* (Zhang et al., 2018; Moon, 2019).

3.6.2. Aislamiento e identificación bacteriana

Las moscas se lavaron tres veces con suero fisiológico 0.9% estéril en un tubo falcon con la ayuda de un vórtex a una velocidad mínima para eliminar los residuos presentes en su superficie. Luego, se introdujeron individualmente en tubos de ensayo con la misma solución, aproximadamente entre a 2 a 3 ml de suero fisiológico estéril. Posteriormente, se centrifugó a 5000 revoluciones por minuto durante cinco minutos. Una vez encontrándose la mosca en el fondo del tubo, se trituraron con la ayuda de una varilla y se centrifugaron nuevamente a 5300 rpm por 10 min (Wadaskar, 2021).

Se tomó 1000 µl del sobrenadante y se introdujeron en tubos con caldo Triptona Soya, con un volumen de 2 a 3 ml, los cuales se colocaron a la incubadora a una temperatura de 37°C durante 18 a 24 horas. Para el aislamiento se utilizó un bucle de caldo en medio de cultivo como el agar Macconkey, una vez sembrado se incubaron a 37°C entre 18 a 24 horas (Wadaskar, 2021).

Para la identificación bacteriana, se empleó una batería de pruebas bioquímicas que incluyó el Agar Triple Azúcar Hierro (Merck), Lisina Hierro (Microgen), Citrato de Simmons (Oxoid) y Sulfuro Hierro Motilidad (BD). En los casos en que no fue posible la identificación mediante este método, se utilizó el sistema automatizado MicroScan®. Las muestras se sembraron en estos medios y se incubaron a 37°C entre 18 a 24 horas. Posteriormente se almacenaron en tubos Eppendorf con 1ml de agar Triptona Soya para su análisis molecular (Akter et al., 2020).

3.6.3. Evaluación de la resistencia bacteriana a colistina

Todas las especies identificadas, fueron sometidas al examen de resistencia a colistina, para ello se utilizaron la técnica de Elución de Discos de colistina en caldo Muller Hinton

Ajustado con Cationes (Millipore) y su posterior interpretación, tal como lo menciona el manual Clinical and Laboratory Standards Institute. Se utilizó a *E. coli* portador de *mcr-1* como control positivo y *E. coli* ATCC 25922 como control negativo (Anexo C). Para ser considerado resistente a este antibiótico se debe tener una concentración mínima inhibitoria de $\geq 4\mu\text{g/ml}$ (CLSI, 2023).

3.6.4. Extracción de ADN

Previo a la extracción y detección del gen de resistencia, se reactivaron las cepas bacterianas en tubos con 3ml de caldo Triptona Soya (Oxoid) y fueron llevadas a la incubadora (Memmert) entre 18 a 24 horas. La extracción de ADN de las bacterias que resultaron ser resistentes a colistina fenotípicamente se realizó mediante la utilización de un Kit comercial InnuPREP Bacteria DNA (Analytikjena), posterior a ello se cuantificaron en un espectrofotómetro (Klab) para evaluar su concentración y pureza del ADN. En caso no fueron utilizados al instante, se almacenaron las muestras en la refrigeradora (Electrolux) a una temperatura de -20°C (Anexo D).

3.6.5. Detección de resistencia a colistina mediado por el gen *Mcr-1*

Una vez extraído el ADN de las bacterias que resultaron ser resistentes por la técnica de Elución de Discos, fueron sometidos a un análisis molecular para detectar el posible gen *mcr-1*.

En este proyecto se utilizó cebadores (Tabla 1) para el gen en mención, descritos en anteriores trabajos. Esto mediante la técnica de PCR convencional utilizando un termociclador T100™ (Biorad). El master mix contenía un volumen total de 25 μl , constituido de la siguiente manera: 1) 2.5 μl de ADN de la muestra, 2) 2.5 μl de Buffer 10x, 3) 0.75 μl de MgCl_2 (50 mM), 4) 0.5 μl de dNTP's (10 mM), 5) 0.15 μl de Taq polimerasa (5U/ μl), 6) 0.5 μl de Primer Forward (10 μM), 7) 0.5 μl de Primer Reverse (10 μM) y 8) 17,6 μl de H_2O Molecular (Instituto

Nacional de Enfermedades Infecciosas "Dr. Carlos Malbran" [INEI-ANLIS, 2016]). Los pasos del ciclaje se detallan en la Tabla 2.

Tabla 1

Cebadores utilizados en la investigación

PCR	Cebador	Secuencia de Nucleótido	Gen	Amplicon
<i>mcr-1</i>	Forward	5'- CGGTCAGTCCGTTTGTTC -3'	<i>mcr-1</i>	309 pares
PCR	Reverse	5'- CTTGGTTCGGTCTGTAGGG -3'		de base.

Nota. Tomado de Liu et al., 2016.

Tabla 2

Etapas de la PCR

Etapas	N° de ciclaje	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización inicial	1° ciclo	94°C	3 minutos
Desnaturalización	30 ciclos ↓	94°C	30 segundos
Hibridación		57°C	30 segundos
Extensión		72°C	1 minuto
Extensión final	1	72°C	5 minutos
Mantenimiento		8°C	

Nota. Tomado de Iglesias, 2018; Liu et al., 2016.

3.6.6. Electroforesis

Los amplicones obtenidos mediante la PCR se procesaron y visualizaron utilizando un sistema electroforético (Cleaver Scientific). Se empleó gel de agarosa al 1.5% (Cleaver Scientific), con niveles de voltaje y amperaje de 100 y 300, respectivamente, y tiempo de corrida de 40 minutos. Se utilizó un agente colorante Sybr Safe DNA Gel Stain (Invitrogen) y el Buffer de carga 6X DNA Loading Dye (Thermo Fisher). Para el buffer de corrida, se prepararon 10ml de Tampón TAE 50X (LGC Biotecnología) y se diluyeron en 490ml de agua destilada.

Los productos obtenidos se compararon con el marcador DNA 100 Pares de Bases (Trans) para determinar el tamaño de los amplicones. Como control positivo, se utilizó una cepa de *E. coli* portador del gen *mcr-1* proveniente del Laboratorio de Investigación en Biología Molecular de la Universidad Peruana Unión y se incluyeron dos controles negativos: *E. coli* ATCC 25922 Kwik Stik (Microbiologics) y el otro control basado en agua molecular.

3.7. Análisis de datos

Todos los datos obtenidos se pasaron a la hoja de cálculo Microsoft Excel 2019 para su orden respectivo y generación de gráficas. Para el análisis estadístico se utilizó el programa informático IBM SPSS Statistics 25.0, donde se usó la prueba de Chi Cuadrado de Pearson con un $p < 0.05$ para evaluar si *Musca domestica* es o no vector de bacterias con resistencia fenotípica y genotípica (*mcr-1*) a colistina.

3.8. Consideraciones éticas

Al no manejar información personal y experimentación con seres humanos no se está llegando a vulnerar ningún aspecto por lo que este proyecto por lo que no requirió ninguna aprobación o permiso ético.

IV. RESULTADOS

De las 60 moscas colectadas en los basurales a exteriores de los mercados Universal y Edén, se lograron aislar e identificar 74 especies bacterias, las cuáles estuvieron comprendidas en 11 géneros (Anexo E y F). Entre ellos, *E. coli* 24,3% (18/74), *K. oxytoca* 17,6% (13/74), *P. mirabilis* 16,2% (12/74), *K pneumoniae* 13,5% (10/74) y *E. aerogenes* 12,2% (9/74) fueron las bacterias con mayor aislamiento. Por otro lado, *Acinetobacter baumannii*, *A. iwoffii* y *Enterobacter cloacae*, fueron las que tuvieron un menor aislamiento con 1,4% (1/74) respectivamente (Tabla 3).

De las N= 74 bacterias que se llegaron a aislar e identificar, se sometieron a la técnica de elución de discos de colistina en caldo, y se encontró que 59 (79,7%) de ellas fueron resistentes fenotípicamente. Dentro de éstas, 7 (11,9%) aislados presentaron una concentración mínima inhibitoria = 4 µg/ml, mientras que 52 (88,1%) mostraron una concentración mínima inhibitoria > 4 µg/ml (Tabla 4).

E. coli 23,7% (14/59), *P. mirabilis* 20,3% (12/59), *K. oxytoca* 16,9% (10/59), *E. aerogenes* 11,9% (7/59) y *K. pneumoniae* 10,2% (6/59) presentaron una CMI \geq 4 µg/ml más elevado. En contraste, *E. cloacae*, *A. baumannii* y *C. braakii* demostraron tener una CMI \geq 4 µg/ml más baja, con 1,7% (1/59) respectivamente (Tabla 5). En la (figura 5) muestra la detección fenotípica de resistencia a colistina.

De las 59 bacterias que tuvieron una CMI \geq 4 µg/ml, se sometieron a una evaluación molecular, con el objetivo de detectar el gen *mcr-1* resistente a colistina. Se encontraron 4 bacterias portadoras del gen, *K. oxytoca* 50% (2/4), *K. pneumoniae* y *E coli* con 25% (1/4) respectivamente (Figura 6 y 7).

Finalmente se realizó un análisis estadístico utilizando la prueba de chi cuadrado de Pearson con un $p < 0,05$, con el objetivo de evaluar si mosca doméstica actúa como vector de

bacterias con resistencia fenotípica y genotípica (*mcr-1*) a colistina. Se obtuvo un resultado de $p=0,035$ (Tabla 6).

Tabla 3

Bacterias aisladas e identificadas en Musca domestica

Bacterias	Basurales		Total bacterias	Total (%)
	Mercado Universal	Mercado el Edén		
	Nº bacterias/%	Nº bacterias/%		
<i>Escherichia coli</i>	9	9	18	24,3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	11	2	13	17,6
<i>Proteus mirabilis</i>	4	8	12	16,2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	5	10	13,5
<i>Enterobacter aerogenes</i>	4	5	9	12,2
<i>Proteus vulgaris</i>	1	2	3	4,1
<i>Citrobacter braakii</i>	1	1	2	2,7
<i>Burkholderia cepacia</i>	0	2	2	2,7
<i>Serratia marcescens</i>	1	1	2	2,7
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	1	1	1,4
<i>Acinetobacter iwoffii</i>	0	1	1	1,4
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	1	1	1,4
Total	36	38	74	100 %

Tabla 4*Frecuencia de la resistencia fenotípica a colistina en ambos mercados*

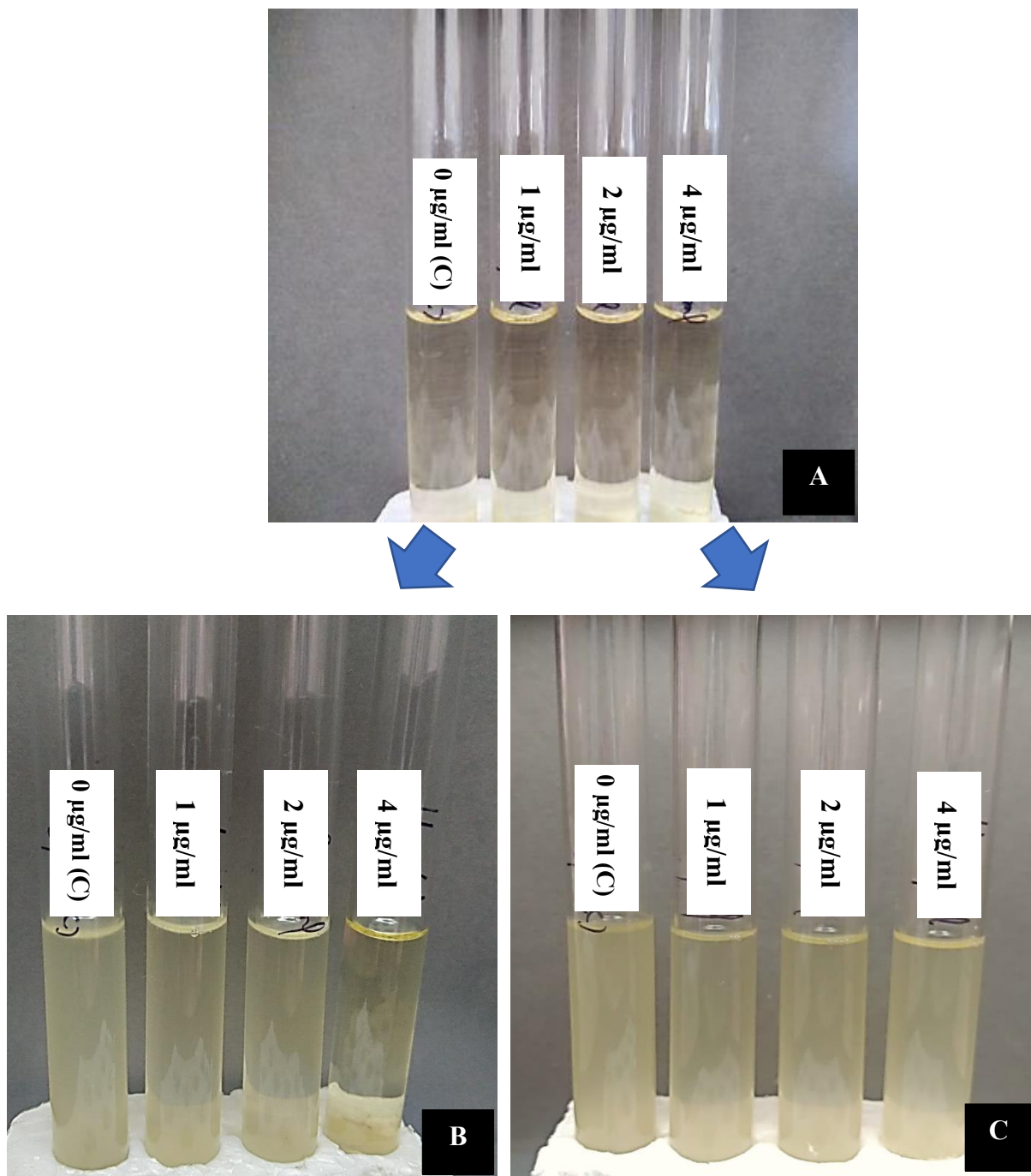
Basural	N° Bacterias	Concentración Mínima Inhibitoria		Total (%)
		= 4 µg/ml	> 4 µg/ml	
Mercado el Edén y Universal	59 (79,7%)	7 (11,9%)	52 (88,1%)	59 (100%)
	15 (20,3%)	0	0	
Total	74 (100%)	7 (11,9%)	52 (88,1%)	59 (100%)

Tabla 5*Concentración Mínima Inhibitoria frente a las bacterias aisladas*

Bacterias	Concentración Mínima Inhibitoria		Total (N)	Total (%)
	= 4 µg/ml	> 4 µg/ml		
<i>Escherichia coli</i>	1	13	14	23,7
<i>Proteus mirabilis</i>	0	12	12	20,3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	8	10	16,9
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	4	7	11,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	6	6	10,2
<i>Proteus vulgaris</i>	0	3	3	5,1
<i>Burkholderia cepacia</i>	0	2	2	3,4
<i>Serratia marcescens</i>	0	2	2	3,4
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	1	1	1,7
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	1	1	1,7
<i>Citrobacter braakii</i>	1	0	1	1,7
Total	7	52	59	100%

Figura 5

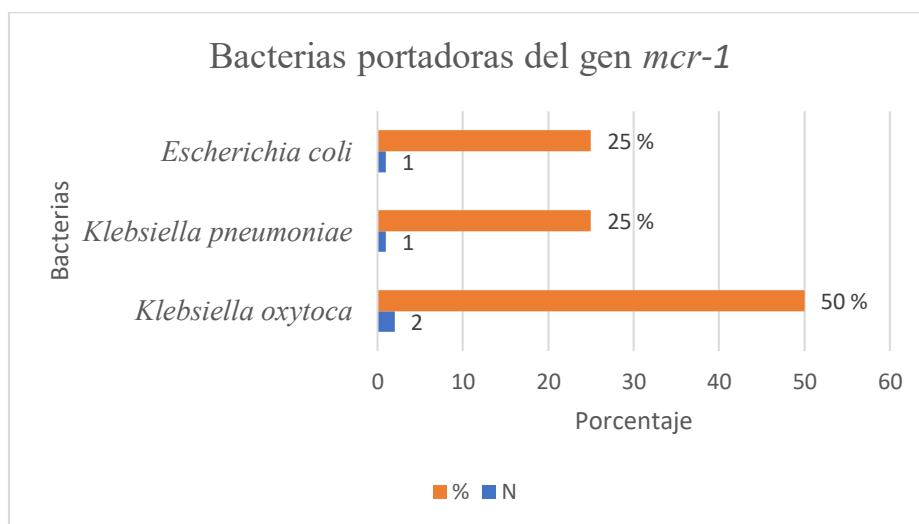
Figuras referenciales sobre la resistencia a colistina por Elución de discos en CAMBH



Nota: **A:** Tubos sin inocular, **B:** CMI = 4ug/ml y **C:** CMI > 4ug/ml, CMI: Concentración Mínima Inhibitoria, CAMBH: Caldo Muller Hinton Ajustado con Cationes. C: Control.

Figura 6

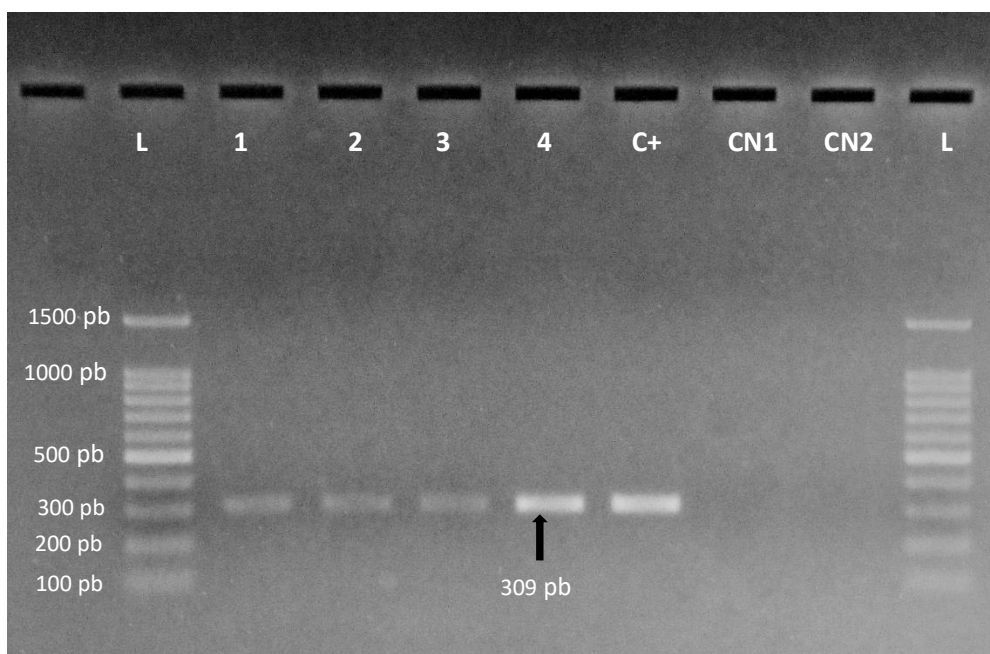
Porcentaje y cantidad de bacterias portadoras del gen *mcr-1*



Nota: %: Porcentaje, N: Numero de bacterias.

Figura 7

Electroforesis de las muestras positivas



Nota: L: Ladder, 1: (MSAU21X), *Klebsiella pneumoniae*, 2: (MSAU23X), *Klebsiella oxytoca*, 3: (MSAU24X), *Klebsiella oxytoca*, 4: (MSAU29X), *Escherichia coli*, C+: Control positivo, *Escherichia coli* portador del gen *mcr-1*, CN1: Control negativo 1, *Escherichia coli* ATCC 25922, CN2: Control negativo 2, agua molecular.

Tabla 6.*Evaluación de la data mediante la prueba de chi cuadrado*

Prueba de chi-cuadrado			Significación asintótica (bilateral)
	Valor	df	
Chi-cuadrado de Pearson	4,463 ^a	1	0.035
Razón de verosimilitud	6.006	1	0.014
N de casos válidos	74		

Nota: df: Grado de libertad.

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

De las 60 moscas domesticas que se colectaron en esta investigación utilizando platos adhesivos con cebo de pollo, se lograron aislar e identificar 74 bacterias en dos basurales de dos mercados. En el estudio realizado por Fukuda et al. (2018) en 27 ubicaciones que incluyeron áreas urbanas y granjas en Tailandia, se capturaron un total de 235 moscas mediante el uso de una red entomológica, de las cuales 177 fueron moscas domésticas, teniendo como resultado de aislamiento un total de 127 bacterias. Así mismo en el estudio de Guenther et al. (2017) en Alemania, se recuperaron un total de 35 muestras bacterianas de tres granjas porcinas. Estas muestras provinieron de hisopados de botas, estiércol y una muestra de mosca domestica realizados entre 2011-2012.

En relación al estudio realizado por Carramaschi (2019) en Brasil, se colectaron un total de 117 moscas, de las cuales 18 fueron mosca doméstica. Este estudio utilizó técnicas de red entomológica, ollas y botellas con cebo como carnada, esta última similar a la que se empleó en nuestro estudio. Como resultado de la colecta, se obtuvieron un total de 197 bacterias aisladas y purificadas, lo que fue significativamente mayor que en nuestro estudio, debido a la mayor variedad y cantidad de moscas. Otro estudio realizado en Perú por Béjar et al. (2006), uno de primeros y más recientes en evaluar la microbiota de mosca, especialmente en busca de enteropatógenos, recolectó un total de 780 moscas domesticas en productos que se vendían en mercados y basurales en Lima-Callao. Estos puntos de colecta fueron idénticos a los de nuestro estudio, y como resultado, se aislaron un total de 14 bacterias,

En general se lograron aislar 11 géneros bacterianos, entre las especies más frecuentes fueron *E. coli* 24,3% (18/74), *K. oxytoca* 17,6% (13/74), *P. mirabilis* 16,2% (12/74), *K. pneumoniae* 13,5% (10/74) y *E. aerogenes* 12,2% (9/74). Por otro lado, *A. baumannii* (1/74), *A. iwoffii* (1/74) y *E. cloacae* (1/74) fueron las bacterias menos frecuentes, cada una de ella con el 1,4% respectivamente. Estudios como el de Zhang et al. (2018) reportaron un total de 11

especies bacterianas, siendo *E. coli* y *Providencia stuartii* las más frecuentes, con un 41% en ambos casos.

Con respecto al estudio de Tufa et al. (2020), reportaron la presencia de *Klebsiella spp*, *E. coli*, *Citrobacter spp*, *Moellerella wisconsensis*, 10 especies, respectivamente y *Enterobacter spp* con 9, como las bacterias con mayor prevalencia de aislamiento. Finalmente, Odetoyin et al. (2020) reportó a *E. coli* 45% (31/67), *K. pneumoniae* 25% (17/67), *Staphylococcus aureus* 16% (11/67) y *P. aeruginosa* 4,3% (3/67) como las bacterias más predominantes.

La microbiota o comunidad bacteriana de *M. doméstica* es variable y no es específica, debido a muchos factores y enfoques que se le podría dar de acuerdo a la investigación que se desee realizar. Para poder evaluar la relación entre las moscas y las bacterias que podría hospedar es necesario realizar muchos estudios minuciosos, relacionados a su ciclo biológico (huevo, larva, pupa y adulto), así como su hábitad, su dieta alimentaria y el factor de la estación del tiempo y como se mencionó con respecto a los objetivos trazados para un determinado estudio (Wei et al., 2013; Yun et al., 2014).

Para la evaluación de la susceptibilidad a colistina, existen dos metodologías aprobadas por el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio, CLSI (por sus siglas en inglés). Una de ellas es la técnica de Elución de discos, que permite evaluar la concentración mínima inhibitoria de colistina necesaria para inhibir el crecimiento de una determinada bacteria. Esta técnica fue utilizada en la presente investigación. La otra metodología es la técnica de la placa de agar con colistina, que permite evaluar de una manera cualitativa la susceptibilidad a colistina (CLSI, 2023).

De las 74 bacterias aisladas e identificadas, se sometieron a la evaluación de su resistencia a colistina mediante la técnica de Elución de discos. Se determinó que 79.7% (59/74) de las bacterianas resultaron ser resistente fenotípicamente, a una concentración

mínima inhibitoria (CMI) $\geq 4\mu\text{g/ml}$, mientras que el 20,3% (15/74) no presentaron resistencia, ya que, tuvieron una $\text{CMI} \leq 2\mu\text{g/ml}$. Del grupo resistente, el 11,9 % (7/59) tuvo una $\text{CMI} = 4\mu\text{g/ml}$ y el 88,1% (52/59) tuvo una $\text{CMI} > 4\mu\text{g/ml}$. Un estudio previo realizado por Wadaskar et al. (2021) sobre la detección de *E. coli* y *Salmonella spp* resistentes a antimicrobianos en moscas atrapadas en granjas reportó que, de las 145 especies aisladas, 36 mostraron resistencia fenotípica a colistina. Este estudio utilizó tiras de E-test en placas de Muller Hinton, una técnica diferente a la nuestra lo que podría explicar las diferencias en la prevalencia de bacterias resistentes a colistina, debido a los objetivos y enfoques distintos de cada estudio.

Carramaschi (2019), realizó un estudio del papel que desempeñaron los dípteros muscoides como diseminadores de bacterias resistentes a los antibióticos. De un total de 197 bacterias aisladas y purificadas, evaluó mediante la técnica de Microdilución en caldo la susceptibilidad antimicrobiana. Con respecto a colistina no encontró resistencia fenotípica, ya que, el 100% de las bacterias resultaron sensibles al antibiótico, con una $\text{CMI} < 1\mu\text{g/ml}$ utilizando la espectrometría de masas MALDI-TOF, En relación a nuestro estudio no se encontraron similitudes en cuanto a la técnica empleada para evaluar la resistencia a colistina ni en los resultados obtenidos.

Detectamos que *E. coli* 23,7% (14/59) presentó una resistencia elevada a colistina $\text{CMI} \geq 4\mu\text{g/ml}$, seguido de *P. mirabilis* 20,3% (12/59), *K. oxytoca* 16,9% (10/59), *E. aerogenes* 11,9% (7/59) y *k. pneumoniae* 10,2% (6/59). Por otro lado *E. cloacae* (1/59), *A. baumannii* (1/59) y *C. braakii* (1/59) presentaron una resistencia menor a colistina con 1,7% respectivamente. Reportes similares se encuentran en el estudio de Zhang et al. (2018), donde observó que *E. coli* (2/11) fue la bacteria con mayor frecuencia de resistencia a colistina, con una $\text{CMI} > 4 \mu\text{g/ml}$. Del mismo modo, otro estudio realizado por Sobur et al. (2019) sobre *E. coli* resistente colistina en aguas de estanque, evidencio que el 18% (22/150) presentaron resistencia fenotípica, esto mediante la técnica de Kirby Bauer.

En la investigación realizada por Fukuda (2017), donde evaluó a *E. coli* resistente a los antimicrobianos proveniente de mosca doméstica en zonas agrícolas. Mediante la técnica de Microdilución en caldo, se reportó que todas las bacterias de *E. coli* (147/147) no presentaron resistencia con un punto de corte $\geq 4\mu\text{g/ml}$. Es preciso mencionar que utilizaron un punto de corte $\geq 16 \mu\text{g/ml}$ que difiere de lo mencionado por la CLSI para el método de Elución en caldo.

Los géneros *Burkholderia spp*, *Proteus spp*, *Serratia spp*, *Providencia spp*, *Morganella spp* se consideran bacterias que presentan resistencia fenotípica intrínseca o natural a colistina debido a factores moleculares que responden a estructuras importantes, como es el caso de su membrana externa, que tiene la característica de ser impermeable a diversos antibióticos, así como a bombas de eflujo que permiten la disminución de concentración de los antibióticos y otras moléculas al ingresar a la región intracelular Landman (2008). En nuestro estudio se logró aislar algunas de estas bacterias, como es el caso *P. mirabilis* (12/12), *P. vulgaris* (3/3), *B. cepacia* (2/2) y *S. marcescens* (2/2), las cuales presentaron resistencia intrínseca en su totalidad.

La Microdilución en caldo, una técnica referencial, que en su momento se llegó a utilizar con mayor frecuencia y que hoy se utiliza en menor proporción debido a las nuevas metodologías aprobadas por la CLSI, como la elución de discos y placa de agar con colistina, deberían ser empleada plenamente. Es importante mencionar que existen técnicas alternativas pero cuestionadas para evaluar la susceptibilidad a este antibiótico, y precisamente estas técnicas alternativas se utilizan en mayor proporción que las metodologías aprobadas por la institución. Esto se debe a factores como el tiempo y el costo, ya que estas técnicas son más accesibles que las metodologías propuestas por la institución. Sin embargo, su uso puede llevar a resultados con un alto margen de error, especialmente en la obtención de falsos positivos y negativos (CLSI, 2023).

Con respecto a los informes relacionados con el gen *mcr-1* su incidencia a nivel mundial es considerable y sigue en aumento, según lo mencionado por Arcilla et al. (2016). En cuanto

al Perú, se informó por primera vez la presencia de este gen en *E. coli*, que provino de una muestra de urocultivo (Ugarte, 2018). Es importante mencionar que no existe estudio previo en Perú relacionado con vectores, por lo tanto, este estudio es uno de primeros en informar sobre la presencia del gen *mcr-1* en bacterias provenientes de moscas domésticas.

Las bacterias en la que detectamos la presencia del gen *mcr-1* fueron las siguientes: *K. oxytoca* 50% (2/4), *E. coli* 25% (1/4) y *K. pneumoniae* 25% (1/4), Este resultado es similar con lo expuesto por Fukuda et al. (2018), donde se encontró que *E. coli* era portadora del gen *mcr-1*. Además, en otro estudio relacionando con la presencia de genes resistentes a colistina, reportó que 4 bacterias eran portadoras del gen *mcr-1* y *E. coli* (2/10) fue una de ellas (Zhang et al., 2018).

Guenther et al. (2017) en su estudio de *E. coli* multidrogoresistentes (MDR), reportaron un total (7/35) muestras como portadoras del gen *mcr-1*. Sin embargo, en el estudio realizado por Wadaskar et al. (2021) con un total de 145 bacterias aisladas de *E. coli* y *Salmonella spp*, no llegó a identificar el gen *mcr-1*.

Se obtuvo un chi cuadrado de Pearson con un valor de $p=0,035$, menor al p valor (0,05) por lo que se puede mencionar que existe una relación significativa entre las variables analizadas. Esto permite la posibilidad de rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna. La cual sostiene que *M. domestica* es vector de bacterias con resistencia fenotípica y genotípica (*mcr-1*) a colistina en basurales de dos mercados de Santa Anita, Lima, Perú.

VI. CONCLUSIONES

- Se llegaron a aislar un total de 74 bacterias de *M. doméstica*, identificándose 11 géneros de bacterias
- *E. coli* (24,3%) fue la bacteria con mayor frecuencia de aislamiento, seguido de *K. oxytoca* (17,6%), *P. mirabilis* (16,2%), *K. pneumoniae* (13,5%) y *E. aerogenes* (12,2%).
- Con respecto a la concentración mínima inhibitoria (CMI), (79,7%) (59/74) de ellas presentaron una resistencia con un punto de corte $\geq 4\mu\text{g/ml}$.
- *E. coli* (23,7%) fue la bacteria que presentó una resistencia fenotípica más elevada (CMI $\geq 4\mu\text{g/ml}$), seguido de *P. mirabilis* (20,3%), *K. oxytoca* (16,9%), *E. aerogenes* (11,9%) y *K. pneumoniae* (10,2%).
- El gen *mcr-1* se llegó a identificar en 4 enterobacterias como *k. oxytoca* 50% (2/4), *E. coli* (1/4) y *K. pneumoniae* (1/4) con 25% respectivamente,

VII. RECOMENDACIONES

- Establecer un determinado criterio de colecta que involucre desde la metamorfosis de mosca doméstica, como también el hábitat, la condición climática con el fin de poder evaluar aspectos relacionados a su microbiota propia de esta especie y como podría ser afectado durante su desarrollo y factores externos, así mismo poder evaluar el nivel de la resistencia de estas bacterias frente a los diversos antibióticos.
- Efectuar estudios utilizando otras técnicas alternativas en la detección fenotípica a colistina, que si bien es cierto no están aprobadas por las instituciones de calidad, sería oportuno hallar una correlación entre las mismas y poder estandarizar los protocolos con un punto de corte que permita ser utilizado con el más mínimo porcentaje de error y, por ende, sea más factible adquirirlos por motivos de economía y factor tiempo.
- Realizar estudios relacionados a otras especies de mosca como también otros vectores, así mismo profundizar las investigaciones con otros antibióticos y otros lugares de coleta, como, por ejemplo: Zonas aledañas o internas de hospitales. Esto debido a que son muy escasas las investigaciones relacionadas a estos, ya que, con el estudio realizado se demuestra la presencia de bacterias portadoras del gen *mcr-1* en mosca doméstica provenientes de basurales de mercados, un tema de mucha preocupación para los aspectos ambientales, veterinarios y clínicos.

VIII. REFERENCIAS

- Aguayo, A., Mella, S., Riedel, G., Bello, H., Domínguez, M., & González-Rocha, G. (2016). Colistín en la era post-antibiótica. *Revista Chilena de Infectología*, 33(2), 166–176. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182016000200006>
- Ahmed, M. A. E. E., Zhong, L., Shen, C., Yang, Y., Doi, Y., & Tian, G. (2020). Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance : an extended review (2000 – 2019). *Emerging Microbes & Infections*, 9(1), 868-885. <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1754133>
- Akter, S., Sabuj, A. A. M., Haque, Z. F., Rahman, M. T., Kafi, M. A., & Saha, S. (2020). Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes from houseflies. *Veterinary World*, 13(2), 266–274. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.266-274>
- Analytikjena. (julio de 2017). *InnuPREP DNA/RNA Mini Kit*. [https://www.analytikjena.fr/fileadmin/content/pdf_life_science/Manual/Manual_innuPREP_DNA_RNA_Min i_Kit.pdf](https://www.analytikjena.fr/fileadmin/content/pdf_life_science/Manual/Manual_innuPREP_DNA_RNA_Min_i_Kit.pdf)
- Arcilla, M., Hattem, J., Matamoros, S., Melles, D., Penders, J., De Jong, M. & Schultsz, C. (2016). Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. *Infectious Diseases*, 16(2), 147-149. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00541-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00541-1)
- Awache, I., & Farouk, A. A. (2016). Bacteria and Fungi Associated With Houseflies Collected From Cafeteria And Food Centres In Sokoto. *FUW Trends in Science & Technology Journal*, 1(1), 123–125. <http://www.ftstjournal.com/uploads/docs/Article%2022.pdf>
- Beckman Coulter (2023). *Conventional Panels.*: <https://www.beckmancoulter.com/es/products/microbiology/conventional-panels>
- Becton Dickinson. (julio de 2014). *Instrucciones de uso – Medios en placa listos para usar bd macconkey ii agar uso previsto*. <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8770>
- Béjar V., Chumpitaz, J., Pareja E., Valencia E., Huamán A., Sevilla., C. y Saez G. (2006). *Musca domestica* como vector mecánico de bacterias enteropatógenas en mercados y

- basurales de lima y callao. *Rev. peru. med. exp. salud publica*, 23(1), 39–43.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342006000100006
- Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Nieto, J. A., & Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. In *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(8), 601-608.
<https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>
- Burmeister, A. R. (2015). Horizontal Gene Transfer. *Evolution, Medicine and Public Health*, 2015(1), 193–194. <https://doi.org/10.1093/emph/eov018>
- Carramaschi I. (2019). *Dípteros Muscoides como Veiculadores de Bacterias Resistentes aos Antimicrobianos* [Tesis de Doctorado, Instituto Oswaldo Cruz]. Repositorio Institucional - Instituto Oswaldo Cruz. <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/39512>
- Catry, B., Cavaleri, M., Baptiste, K., Grave, K., Grein, K., Holm, A., Jukes, H., Liebana, E., Navas, A. L., Mackay, D., Magiorakos, A. P., Romo, M. A. M., Moulin, G., Madero, C. M., Pomba, M. C. M. F., Powell, M., Pyörälä, S., Rantala, M., Ružauskas, M., ... Edo, J. T. (2015). Use of colistin-containing products within the European Union and European Economic Area (EU/EEA): development of resistance in animals and possible impact on human and animal health. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 46(3), 297–306.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.06.005>
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2023). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing M100, 30th Edition. In *Clsi* (Vol. 40, Issue 1): <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
- Cuevas, L. B. (2009). Microbiología Clínica. *Universidad Europea de Madrid*, 1, 236–265.
<https://www.sintesis.com/data/indices/9788490773185.pdf>
- Falagas, M. E., & Kasiakou, S. K. (2005). Colistin: The revival of polymyxins for the

- management of multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Clinical Infectious Diseases*, 40(9), 1333–1341. <https://doi.org/10.1086/429323>
- Fernández, F., López, J. y Ponce, L. M. y Machado, C. (2003). Resistencia bacteriana, *Rev Cubana Med Mili*, 32(1), 44-8. <http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v32n1/mil07103.pdf>
- Förster, M., Klimpel, S., Mehlhorn, H., Sievert, K., Messler, S., & Pfeffer, K. (2007). Pilot study on synanthropic flies (e.g. *Musca*, *Sarcophaga*, *Calliphora*, *Fannia*, *Lucilia*, *Stomoxys*) as vectors of pathogenic microorganisms. *Parasitology Research*, 101(1), 243–246. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0522-y>
- Fukuda, A. (2017). *Role of flies for spreading antimicrobial resistant bacteria and its resistance genes in farm environments* [Tesis de Doctorado, Universidad Rakuno Gakuen]. Repositorio Institucional - Universidad Rakuno Gakuen. https://rakuno.repo.nii.ac.jp/record/5505/files/fukuda_hakuron.pdf
- Fukuda, A., Usui, M., Okubo, T., Tagaki, C., Sukpanyatham, N., & Tamura, Y. (2018). Co-harboring of cephalosporin (*bla*)/colistin (*mcr*) resistance genes among Enterobacteriaceae from flies in Thailand. *FEMS Microbiology Letters*, 365(16), 1–7. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny178>
- Galal, F. H., ElShammari, T., & Seufi, A. E. M. (2019). Isolation, characterization and antagonistic activity of the external microflora of the house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(3), 1619–1628. <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.3.35>
- Graczyk T.K., Knight R., Gilman R.H. & Cranfield M.R. (2001). The role of non-biting flies in the epidemiology of human infectious diseases. *Microbes Infect*; 3(3):231-5. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(01\)01371-5](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(01)01371-5)
- Gröndahl, K., Lönnqvist, E., Kallonen, T., Lindholm, L., Jalava, J., Rantakokko-Jalava, K., & Vuopio, J. (2018). The first human report of mobile colistin resistance gene, *mcr-1*, in

- Finland. *Apmis*, 126(5), 413–417. <https://doi.org/10.1111/apm.12834>
- Guenther, S., Falgenhauer, L., Semmler, T., Imirzalioglu, C., Chakraborty, T., Roesler, U., & Roschanski, N. (2017). Environmental emission of multiresistant *Escherichia coli* carrying the colistin resistance gene *mcr-1* from German swine farms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(5), 1289–1292. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw585>
- Iglesias R. (2018). *Resistencia a colisitna en enterobacterias zoonóticas* [Tesis de Doctorado, Universidad de Extremadura]. Repositorio Institucional - Universidad de Extremadura. https://dehesa.unex.es/bitstream/10662/8565/1/TDUEX_2018_Iglesias_Parro.pdf.
- Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas "Dr. Carlos Malbran" (2016). *Protocolo de PCR para la detección del gen mcr-1 en aislamientos de bacilos gram-negativos*. <http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2021/04/Detecci%C3%B3n-mcr-1-v1.pdf>
- Kaiser G. (2019). *Horizontal Gene Transfer in Bacteria*. [https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology_\(Kaiser\)/Unit_2%3A_Bacterial_Genetics_and_the_Chemical_Control_of_Bacteria/3%3A_Bacterial_Genetics/3.1%3A_Horizontal_Gene_Transfer_in_Bacteria](https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Microbiology_(Kaiser)/Unit_2%3A_Bacterial_Genetics_and_the_Chemical_Control_of_Bacteria/3%3A_Bacterial_Genetics/3.1%3A_Horizontal_Gene_Transfer_in_Bacteria)
- Landman, D., Georgescu, C., Martin, D. A., & Quale, J. (2008). Polymyxins Revisited. *American Society for Microbiology*, 21(3), 449–465. <https://doi.org/10.1128/CMR.00006-08>
- Lifeder. (11 de mayo de 2023). *Caldo soya tripticaseína*. <https://www.lifeder.com/caldo-soya-tripticaseina/>.
- Li, Z., Cao, Y., Yi, L., Liu, J. H., & Yang, Q. (2019). Emergent Polymyxin Resistance: End of an Era? *Open Forum Infectious Diseases*, 6(10), 1–10. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz368>
- Li, Q., Chang, W., Zhang, H., Hu, D., & Wang, X. (2019). The Role of Plasmids in the Multiple

- Antibiotic Resistance Transfer in ESBLs-Producing *Escherichia coli* Isolated From Wastewater Treatment Plants. *Front. Microbiol*, 10, 633. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00633>
- Liu, Y. Y., Wang, Y., Walsh, T. R., Yi, L. X., Zhang, R., Spencer, J., Doi, Y., Tian, G., Dong, B., Huang, X., Yu, L. F., Gu, D., Ren, H., Chen, X., Lv, L., He, D., Zhou, H., Liang, Z., Liu, J. H., & Shen, J. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(2), 161–168. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)
- March-Rosselló, G. A. (2017). Métodos rápidos para la detección de la resistencia bacteriana a antibióticos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 35(3), 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2016.12.005>
- Montalvo-Navarro, C., & Lugo-Flores, M. (2016). Electrophoresis : fundamentals , advances and applications. *Epistemus*, 13(26)48–54. <https://doi.org/10.36790/epistemus.v13i26.96>
- Moon, R.D. (2019) Muscid flies (Muscidae) en Durden, L. A., & Mullen, G. R. (Ed.), *Introduction. In Medical and Veterinary Entomology* (3Th ed., pp. 279-301). Elsevier Inc. https://web.natur.cuni.cz/parasitology/vyuka/LekEnt_CV/Mullen%20and%20Durden%20-%20Medical%20and%20Veterinary%20Entomology%202019.pdf
- Nazari, M., Mahrabi, T., Hosseini, S. M., & Alikhani, M. Y. (2017). Bacterial contamination of adult house flies (*Musca domestica*) and sensitivity of these bacteria to various antibiotics, captured from Hamadan City, Iran. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(4), 04-07. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/23939.9720>
- Odetoyin, B., Adeola, B., & Olaniran, O. (2020). Original Article Frequency and Antimicrobial Resistance Patterns of Bacterial Species Isolated from the Body Surface of the Housefly (*Musca domestica*) in Akure , Ondo State, Nigeria . *J Arthropod Borne Dis*, 14(1):88-

96. <https://doi.org/10.18502/jad.v14i1.2715>.

Organización Mundial de la Salud (2 de marzo de 2020). *Enfermedades transmitidas por vectores*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>

Organización Mundial de la Salud (17 de noviembre de 2021). *Resistencia a los antimicrobianos*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. (10 de junio de 2016). *Alerta Epidemiológica: Enterobacterias con resistencia transferible a colistina, implicaciones para la salud pública en las Américas*. <https://www.paho.org/es/documentos/10-junio-2016-enterobacterias-con-resistencia-transferible-colistina-implicaciones-para>

Organización Panamericana de la Salud. (26 de noviembre de 2019) *Tratamiento de las enfermedades infecciosas 2020-2022. Octava edición*. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51695>

Poirel, L., Jayol, A., & Nordmann, P. (2017). Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes Laurent Poirel^{a,b,c}, Aurélie Jayola^{a,b,c} and Patrice Nordmann. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(2), 557–596. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28275006>

Rapoport, B. M., (s.f.). Mecanismos de acción y resistencia a colistín . Pruebas de tamizaje para evaluación de sensibilidad a colistín. <https://rr-americas.woah.org/wp-content/uploads/2022/12/sp-mecanismos-de-accion-y-resistencia-a-colistin.pdf>

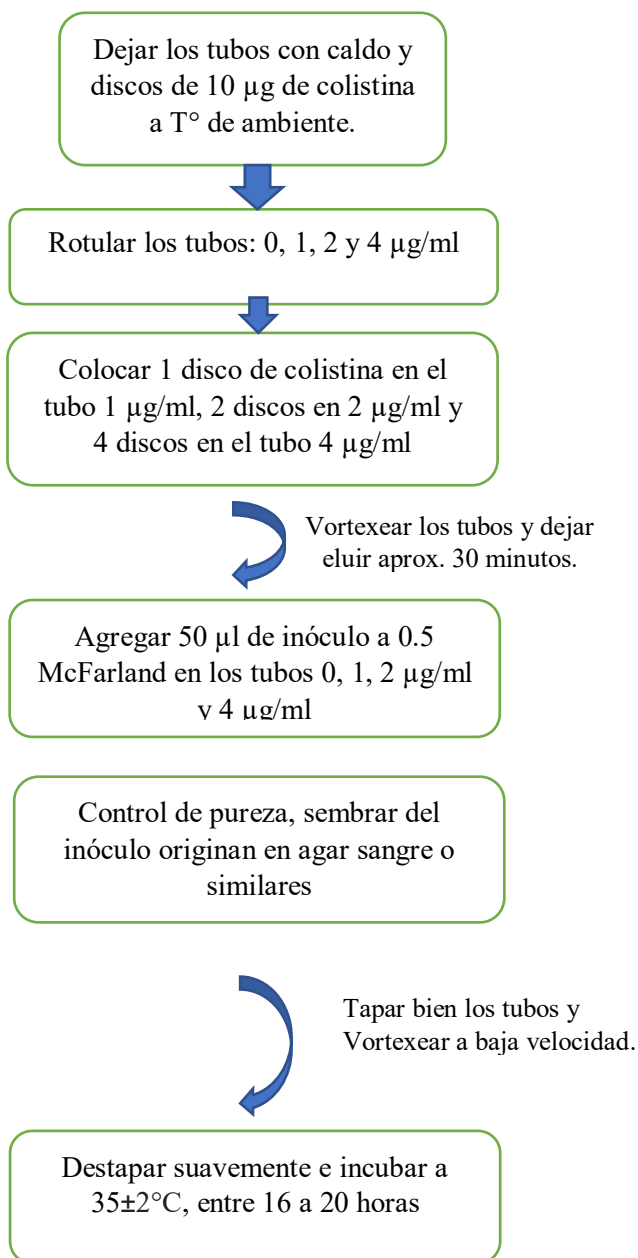
Sobur A., Ievy S., Haque F., Nahar A., Zaman S. & Rahman M. (2019) Emergence of colistin-resistant *Escherichia coli* in poultry, house flies, and pond water in Mymensingh, Bangladesh. *J Adv Vet Anim Res*, 6(1), 50–3. <https://doi.org/10.5455%2Fjavar.2019.f311>

- Tufa, T. B., Fuchs, A., & Pfeffer, K. (2020). Carriage of ESBL-producing Gram-negative bacteria by house flies captured in a hospital and its suburban surroundings in Ethiopia. *Antimicrob Resist Infect Control*, 9(1), 175. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00836-0>
- Ugarte-Silva, R. G., Olivo-López, J. M., Corso, A., Pasteran, F., Albornoz, E., y Sahuanay-Blácido, Z. P. (2018). Resistencia a colistín mediado por el gen *mcr-1* identificado en cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*. Primeros reportes en el Perú. *Anales de La Facultad de Medicina*, 79(3), 213. <https://doi.org/10.15381/anales.v79i3.15313>
- Veldman, K., Van Essen-Zandbergen, A., Rapallini, M., Wit, B., Heymans, R., van Pelt, W., & Mevius, D. (2016). Location of colistin resistance gene *mcr-1* in Enterobacteriaceae from livestock and meat. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(8), 2340–2342. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw181>
- Wadaskar, B. (2021). Detection of Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella* Isolated from Flies Trapped at Animal and Poultry Farm Premises. *Journal of Animal Research*, 11(3), 341–350. <https://doi.org/10.30954/2277-940x.03.2021.1>
- Wei, T., Hu, J., Miyanaga, K., & Tanji, Y. (2013). Comparative analysis of bacterial community and antibiotic-resistant strains in different developmental stages of the housefly (*Musca domestica*). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(4), 1775–1783. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4024-1>.
- Yin J. H., Kelly P. J. & Wang C. (2022). Flies as Vectors and Potential Sentinels for Bacterial Pathogens and Antimicrobial Resistance: A Review. *Vet Sciences*, 9(6), 300. <https://doi.org/10.3390/vetsci9060300>.
- Yun, J., Roh, W., Whon, W., Jung, M., Kim, M., Park, D., & Yoon, C. (2014). Insect Gut Bacterial Diversity Determined by Environmental Habitat , Diet , Developmental Stage , and Phylogeny of Host. *Appl Environ Microbiol.* 80(17), 5254-64. <https://doi.org/10.1128/AEM.01226-14>

- Zárate M., Barrantes D., Cuicapuza D., Velasquez J., Fernández N., Salvatierra G. y Altamariz, J. (2021). Frecuencia de resistencia a colistina en *Pseudomonas aeruginosa*: Primer reporte en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 38(2), 308-12. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2021.382.6977>
- Zhang J., Wang J., Chen L., Yassin A.K., Kelly P., Butaye P., Li J., Gong J., Cattley R., Qi K. & Wang C (2018). Housefly (*Musca domestica*) and blow fly (*Protophormia terraenovae*) as vectors of bacteria carrying colistin resistance genes. *Appl Environ Microbiol*, 84:e01736-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.01736-17>.

IX. ANEXOS**Anexo A**

Flujograma resumido sobre la metodología de Elución de discos de colistina



Nota: Tomado de CLSI, 2023.

Anexo B

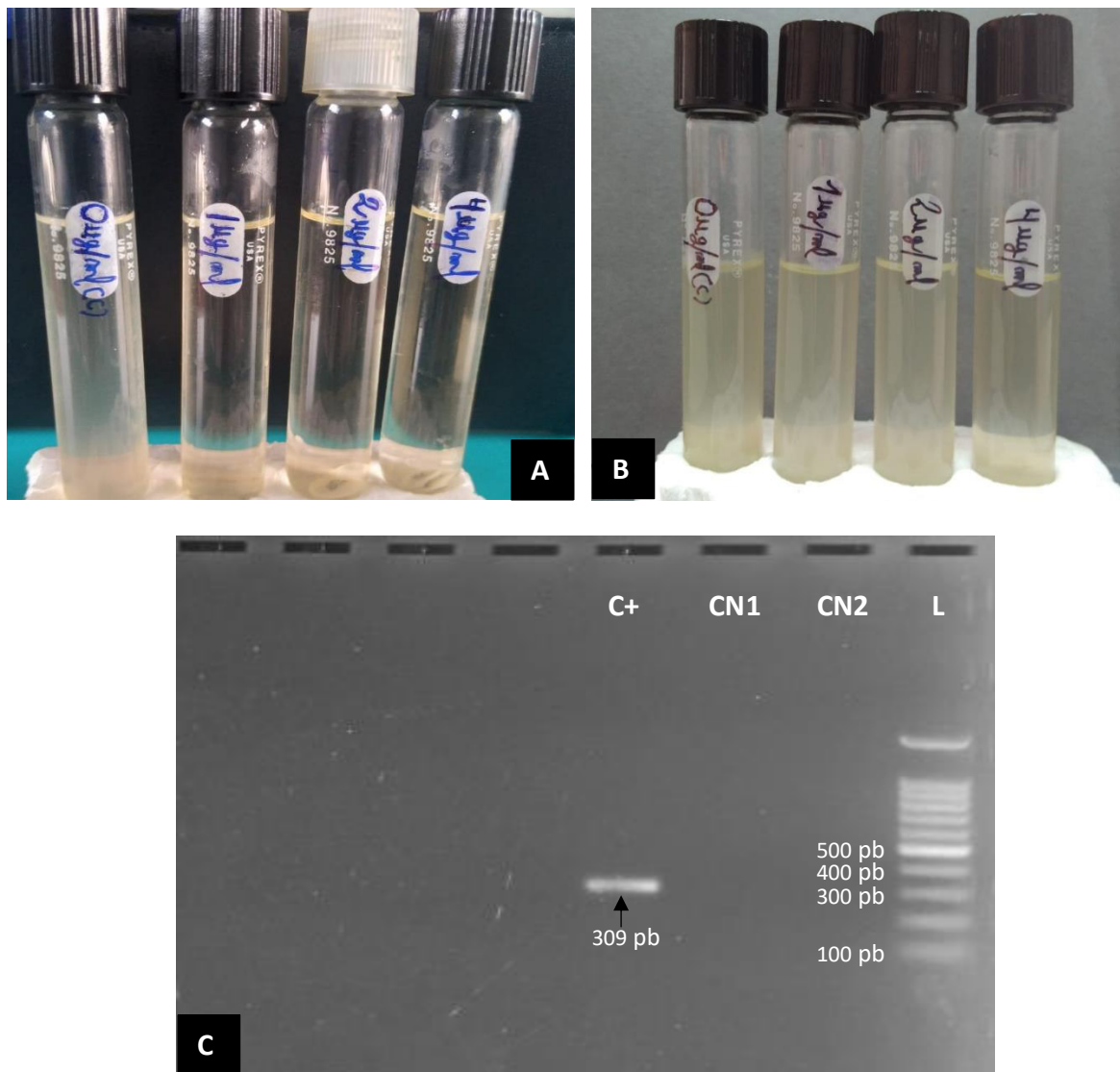
Fotografías relacionadas a la identificación de Mosca doméstica (*Musca domestica*)



Nota: **A:** Tórax con 4 líneas negras horizontales llamadas vittas, **B:** Ala derecha, **m1:** Vena alar media 1, **a1:** Vena alar anal, **C:** Ojos compuestos rojizos y pieza bucal esponjosa, **D:** Abdomen gris o amarillento con línea media oscura y lateral irregulares.

Anexo C

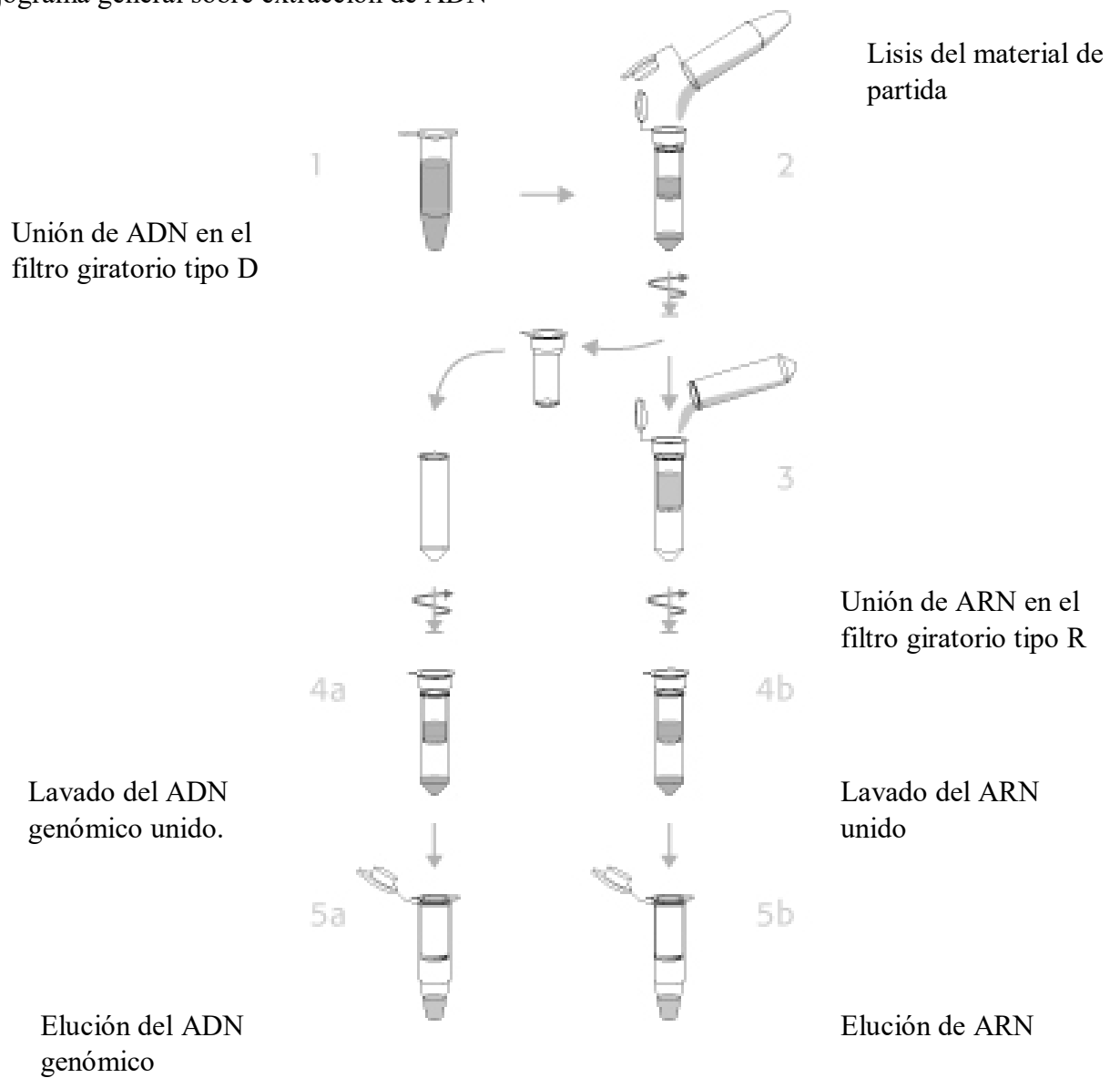
Resultados del control de calidad de las cepas bacterianas para las pruebas de Microbiología y Biología Molecular para Colistina



Nota: **A:** *Escherichia coli* ATCC 25922 en Caldo Muller Hinton Ajustado con Cationes (CAMBH), CMI= 1 µg/ml (Intermedio). **B:** *E. coli* portador del gen *mcr-1* en CAMBH, CMI: > 4 µg/ml (Resistente). **C:** C+: *E. coli* portador del gen *mcr1*, CN1: Control negativo, *E. coli* ATCC 25922, CN2: Control negativo, agua molecular, L: Ladder y CMI: Concentración Mínima Inhibitoria.

Anexo D

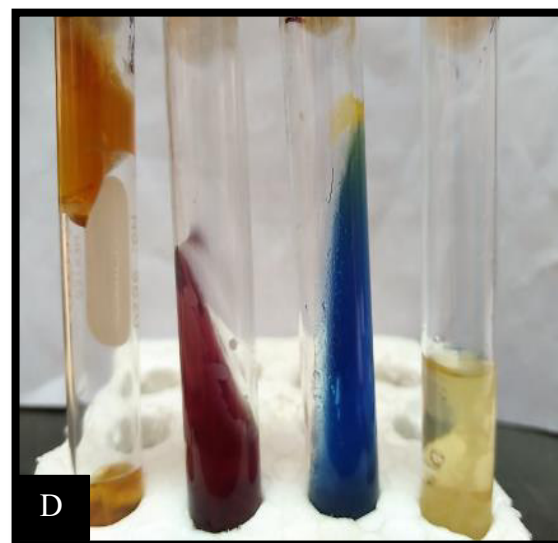
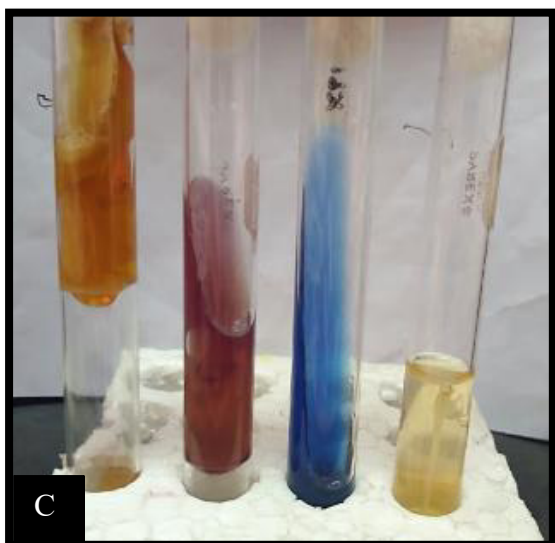
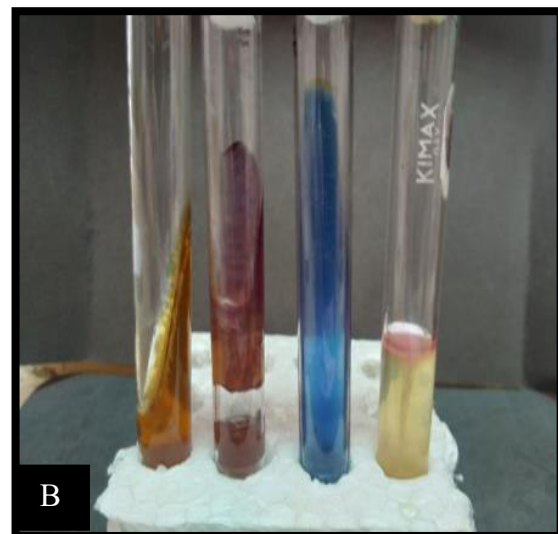
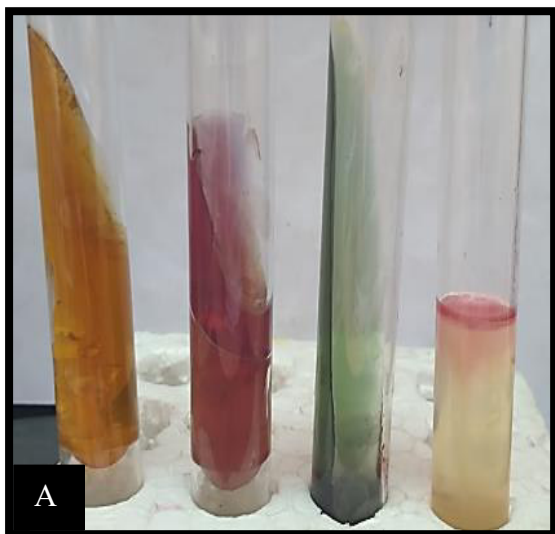
Flujograma general sobre extracción de ADN

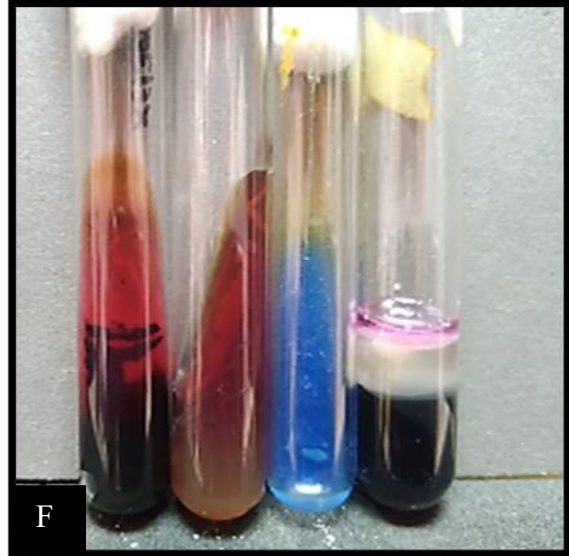
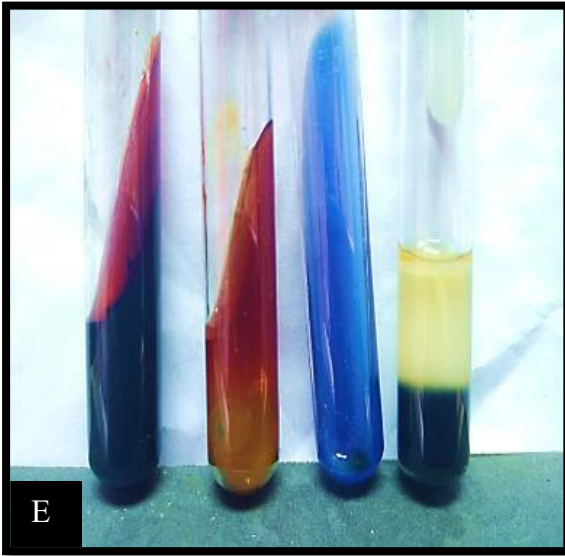


Nota: ADN: Ácido desoxirribonucleico, ARN: Ácido ribonucleico. Tomado de Analytikjena, 2017.

Anexo E

Resultados de las pruebas bioquímicas para la identificación de género y especie bacteriana





Nota: A: Escherichia coli, B: Klebsiella oxytoca, C: Klebsiella pneumoniae, D: Enterobacter aerogenes, E: Proteus mirabilis, F: Proteus vulgaris.

Anexo F

Resultados del sistema automatizado MicroScan® para la identificación bacteriana

Datos de panel																					
Biotipo:		00067066777																			
A																					
Identificación de microorganismos:																					
Microorganismo			% probabilidad	Notas a pie de pá...		Características especiales															
1 B. cepacia			99.99			PAV															
Resultados bioquímicos:																					
GLU	-	RAF	-	INO	-	URE	-	LYS	+	TDA	-	CIT	+	CL4	+	TAR	+	OF/G	+	NIT	+
SUC	-	RHA	-	ADO	-	H2S	-	ARG	+	ESC	-	MAL	+	CF8	+	ACE	+	P4	+	FD64	+
SOR	-	ARA	-	MEL	-	IND	-	ORN	+	VP	-	ONPG	-	TO4	+	CET	+	K4	+	OXI	+
Resultados de CIM: (Los antimicrobianos marcados con "Ø" están suprimidos en el Informe Largo y Corto de Paciente)																					
A/S	AK	AM	AUG	AZT	CAZ	CAZ/CA	CF	CFT	CFT/CA	CFX	ØCL	CP	CPE	CRM							
>16/8	<=16	>16	>16/8	8	<=1	>2	>16	>16	>4	>16	NR	>2	4	>16							
S																					
ETP	FD	FOS	GM	IMP	LVX	MER	NA	NXN	P/T	T/S	ØTGC	TO									
>1	>64	>64	8	2	<=2	<=1	<=16	8	<=16	>2/38	NR	<=4									
S S R																					
P adicional:		ESBL ...																			

Datos de panel																					
Microorganismo:		S. marcescens																			
B																					
Resultados bioquímicos:																					
GLU	+	RAF	-	INO	+	URE	+	LYS	+	TDA	-	CIT	+	CL4	+	TAR	-	OF/G	-	NIT	+
SUC	+	RHA	-	ADO	+	H2S	-	ARG	-	ESC	-	MAL	+	CF8	-	ACE	+	P4	+	FD64	-
SOR	+	ARA	-	MEL	-	IND	-	ORN	+	VP	+	ONPG	+	TO4	-	CET	-	K4	+	OXI	-
Resultados de CIM: (Los antimicrobianos marcados con "Ø" están suprimidos en el Informe Largo y Corto de Paciente)																					
A/S	AK	AM	AUG	AZT	CAZ	CAZ/CA	CF	ØCFT	CFT/CA	CFX	CL	CP	CPE	CRM							
<=8/4	32	>16	<=8/4	8	<=1	<=0.25	<=8	NR	<=0.5	<=8	>4	<=1	<=1	<=8							
S I R S I S S R I S S S																					
ETP	FD	FOS	GM	IMP	LVX	MER	NA	NXN	P/T	T/S	TGC	TO									
<=0.5	<=32	<=64	<=4	<=1	<=2	<=1	<=16	<=4	<=16	<=2/38	<=1	<=4									
S N/R S S S S S* S S S																					
P adicional:		ESBL -																			

Datos de panel



Microorganismo: A baumannii cplx

Resultados bioquímicos:

GLU + RAF - INO - URE + LYS + TDA + CIT + CL4 - TAR - OF/G + NIT -
 SUC - RHA - ADO - H2S - ARG + ESC - MAL + CF8 + ACE - P4 + FD64 +
 SOR - ARA - MEL - IND - ORN + VP - ONPG - TO4 - CET - K4 - OXI -

Resultados de CIM: (Los antimicrobianos marcados con"Ø" están suprimidos en el Informe Largo y Corto de Paciente)

A/S	AK	AM	AUG	AZT	CAZ	CAZ/CA	CF	CFT	CFT/CA	CFX	ØCL	CP	CPE	CRM
>16/8	<=16	>16	>16/8	4	<=1	>2	>16	16	>4	>16	NR	<=1	4	>16
R	S				S			I				S	S	
ETP	FD	FOS	GM	ØIMF	LVX	MER	NA	NXN	ØP/T	T/S	ØTGC	TO		
>1	>64	<=64	<=4	NR	<=2	<=1	<=16	<=4	NR	>2/38	NR	<=4		
		S	S		S	S				R		S		

P adicional: ESBL ...

Datos de panel



Biotipo: 00000402100

Identificación de microorganismos:

Microorganismo	% probabilidad	Notas a pie de pá...	Características especiales
1 Ac lwoffii grupo	99.99		

Resultados bioquímicos: (Los resultados que aparecen en negrita y subrayados son atípicos para el primer microorganismo)

GLU - RAF - INO - URE - LYS - TDA - CIT - CL4 - TAR - OF/G - NIT -
 SUC - RHA - ADO - H2S - ARG - ESC - MAL - CF8 + ACE - P4 - FD64 -
 SOR - ARA - MEL - IND - ORN - VP - ONPG - TO4 - CET - K4 - OXI -

Resultados de CIM: (Los antimicrobianos marcados con"Ø" están suprimidos en el Informe Largo y Corto de Paciente)

A/S	AK	AM	AUG	AZT	CAZ	CAZ/CA	CF	CFT	CFT/CA	CFX	ØCL	CP	CPE	CRM
<=8/4	<=16	<=8	<=8/4	<=1	<=1	<=0.25	16	<=1	<=0.5	<=8	NR	>2	<=1	<=8
S	S				S			S				R	S	
ETP	FD	FOS	GM	ØIMF	LVX	MER	NA	NXN	ØP/T	T/S	ØTGC	TO		
<=0.5	<=32	<=64	<=4	NR	<=2	<=1	<=16	>8	NR	<=2/38	NR	<=4		
		S	S		S	S				S		S		

P adicional: ESBL ...

Activar Windows
 Ve a Configuración para activar Windows.

Datos de panel

E

Biotipo: 77103171076

Identificación de microorganismos:

	Microorganismo	% probabilidad	Notas a pie de pá...	Características especiales
1	E. cloacae	99.99		

Resultados bioquímicos:

 GLU + RAF + INO - URE - LYS - TDA - CIT + CL4 - TAR - OF/G + NIT +
 SUC + RHA + ADO - H2S - ARG + ESC - MAL + CF8 + ACE - P4 + FD64 +
 SOR + ARA + MEL + IND - ORN + VP + ONPG + TO4 + CET - K4 + OXI -

Resultados de CIM: (Los antimicrobianos marcados con "Ø" están suprimidos en el Informe Largo y Corto de Paciente)

A/S	AK	AM	AUG	AZT	CAZ	CAZ/CA	CF	CFT	CFT/CA	CFX	ØCL	CP	CPE	CF
16/8	>32	16	>16/8	8	<=1	<=0.25	<=8	2	<=0.5	<=8	NR	<=2	4	<=
I	R	I	R	I	S			I		S		S	S	S
ETP	FD	FOS	GM	IMP	LVX	MER	ØNA	NXN	P/T	T/S	TGC	TO		
<=0.5	>64	<=64	8	<1	<2	2	NR	>8	<=16	>2/38	2	>8		
S		N/R	I	S	S	I			S*	R	I	R		

P adicional: ESBL -

Datos de panel

F

Microorganismo: Citrobacter braakii

Resultados bioquímicos:

 GLU + RAF - INO - URE - LYS - TDA + CIT + CL4 - TAR - OF/G + NIT +
 SUC - RHA + ADO - H2S + ARG + ESC - MAL + CF8 + ACE + P4 + FD64 +
 SOR + ARA + MEL - IND - ORN + VP - ONPG + TO4 - CET - K4 - OXI -

Resultados de CIM: (Los antimicrobianos marcados con "Ø" están suprimidos en el Informe Largo y Corto de Paciente)

A/S	AK	AM	AUG	AZT	CAZ	CAZ/CA	CF	CFT	CFT/CA	CFX	ØCL	CP	CPE	CRM
<16/8	>32	>16	>16/8	8	<=1	<=0.25	>16	<=4	>4	>8	NR	<=1	<=2	>14
I	S	R	R	I	S			S				S	S	
ETP	FD	FOS	GM	ØIMP	LVX	MER	NA	NXN	ØP/T	T/S	ØTGC	TO		
<=0.5	>4	<=64	<2	NR	>2	<2	<=16	<=4	NR	<2/38	NR	<=4		
S		N/R	S		I	S				S		S		

P adicional: ESBL ...

Nota: **A:** *Burkholderia cepacia*, **B:** *Serratia marcescens*, **C:** *Acinetobacter baumannii*, **D:** *Acinetobacter iwoffii*, **E:** *Enterobacter cloacae* y **F:** *Citrobacter braakii*.

GLU: Glucosa, SUC: Sucrosa, SOR: Sorbitol, RAF: Rafinosa, RHA: Ramnosa, ARA: Arabinosa, IND: Indol, ADO: Adonitol, MEL: D-melzitosa, URE: Urea, H2S: Sulfuro de hidrogeno, IND: Inositol, LYS: Lisina, ARG: Arginina, ORN: Ornitina, TDA: Triptófano desaminasa, ESC: Esculina, VP: Vorges proskauer, CIT: Citrato, MAL: Malato, ONPG: Ortonitro-fenil-galactopiranosido, TAR: Tartrato, ACE: Acetato, CET: Cetato., OF/G Oxidación de glucosa, NIT: Nitrato, OXI: Oxidasa.

Anexo G

Tabla general de los datos recolectados en la presente investigación

Lugar de colecta	Subcodificación	Bacterias	Concentración Mínima Inhibitoria de Colistina		Concentración ADN (ng/μl)	Absorbancia 260/280	Gen mcr-1
			= 4 μg/ml	< 4 μg/ml			
Basural Mercado Universal	MSAU1X	<i>Proteus mirabilis</i>		Positivo	32.605	1.39	Negativo
	MSAU1Y	<i>Klebsiella oxytoca</i>		Positivo	23.330	1.53	Negativo
	MSAU2X	<i>Enterobacter aerogenes</i>		Positivo	44.286	1.40	Negativo
	MSAU2Y	<i>Serratia marcescens</i>		Positivo	63.459	1.81	Negativo
	MSAU3X	<i>Klebsiella oxytoca</i>		Negativo	NR	NR	Negativo
	MSAU4X	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Negativo	NR	NR	Negativo
	MSAU5X	<i>Escherichia coli</i>		Positivo	30.459	1.07	Negativo
	MSAU6X	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Negativo	NR	NR	Negativo
	MSAU7X	<i>Proteus mirabilis</i>		Positivo	17.852	2.37	Negativo
	MSAU8X	<i>Citrobacter Braakii</i>		Negativo	NR	NR	Negativo
	MSAU9X	<i>Enterobacter aerogenes</i>		Negativo	NR	NR	Negativo
	MSAU10X	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Positivo		22.737	1.65	Negativo
	MSAU11X	<i>Proteus mirabilis</i>		Positivo	30.888	2.89	Negativo
	MSAU12X	<i>Klebsiella oxytoca</i>		Positivo	42.372	2.30	Negativo
	MSAU12Y	<i>Proteus vulgaris</i>		Positivo	25.608	1.45	Negativo
	MSAU13X	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Positivo	29.733	2.08	Negativo
	MSAU14X	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Positivo	84.15	2.30	Negativo
	MSAU15X	<i>Klebsiella oxytoca</i>		Negativo	NR	NR	Negativo
	MSAU16X	<i>Escherichia coli</i>		Positivo	28.710	1.59	Negativo
	MSAU17X	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Positivo		37.917	1.98	Negativo
MSAU18X	<i>Escherichia coli</i>		Positivo	20.196	1.93	Negativo	
MSAU19X	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo		28.479	1.85	Negativo	
MSAU19Y	<i>Proteus mirabilis</i>		Positivo	18.612	2.06	Negativo	
MSAU20X	<i>Escherichia coli</i>		Positivo	27.555	1.73	Negativo	

Lugar de colecta	Subcodificación	Bacterias	Concentración Mínima Inhibitoria de Colistina		Concentración ADN (ng/μl)	Absorbancia 260/280	Gen mcr-1
			= 4 μg/ml	< 4 μg/ml			
Basural Mercado Universal	MSAU21X	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Positivo	39,879	2,04	Positivo
	MSAU21Y	<i>Enterobacter aerogenes</i>		Positivo	73,194	2,19	Negativo
	MSAU22X	<i>Klebsiella oxytoca</i>		Positivo	33,231	1,51	Negativo
	MSAU23X	<i>Klebsiella oxytoca</i>		Positivo	53,031	1,70	Positivo
	MSAU24X	<i>Klebsiella oxytoca</i>		Positivo	29,469	1,66	Positivo
	MSAU24Y	<i>Escherichia coli</i>		Positivo	33,264	1,50	Negativo
	MSAU25X	<i>Klebsiella oxytoca</i>		Positivo	25,254	1,58	Negativo
	MSAU26X	<i>Klebsiella oxytoca</i>		Positivo	40,491	1,91	Negativo
	MSAU27X	<i>Escherichia coli</i>		Positivo	16,991	1,83	Negativo
	MSAU28X	<i>Escherichia coli</i>		Positivo	21,219	1,69	Negativo
	MSAU29X	<i>Escherichia coli</i>		Positivo	53,196	1,70	Positivo
	MSAU30X	<i>Escherichia coli</i>		Negativo	NR	NR	Negativo
	Basural Mercado El Edén	MSAE1X	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Negativo	NR	NR
MSAE2X		<i>Acinetobacter iwoffii</i>		Negativo	NR	NR	Negativo
MSAE2Y		<i>Escherichia coli</i>		Negativo	NR	NR	Negativo
MSAE3X		<i>Klebsiella oxytoca</i>		Negativo	NR	NR	Negativo
MSAE4x		<i>Escherichia coli</i>		Positivo	26,631	1,31	Negativo
MSAE5X		<i>Serratia marcescens</i>		Positivo	30,156	1,58	Negativo
MSAE6X		<i>Proteus mirabilis</i>		Positivo	24,015	1,31	Negativo
MSAE7X		<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo		40,128	1,58	Negativo
MSAE8X		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Positivo	35,871	1,50	Negativo
MSAE8Y		<i>Escherichia coli</i>		Negativo	NR	NR	Negativo
MSAE9X		<i>Escherichia coli</i>		Negativo	NR	NR	Negativo
MSAE9Y		<i>Proteus mirabilis</i>		Positivo	25,136	1,31	Negativo
MSAE10X		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Positivo	36,102	1,43	Negativo
MSAE10y		<i>Proteus mirabilis</i>		Positivo	28,347	1,43	Negativo
MSAE11X		<i>Proteus mirabilis</i>		Positivo	52,503	1,60	Negativo
MSAE12X	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Positivo	21,545	1,14	Negativo	
MSAE12Y	<i>Klebsiella oxytoca</i>		Positivo	20,295	1,53	Negativo	
MSAE13X	<i>Proteus vulgaris</i>		Positivo	55,011	1,96	Negativo	
MSAE13Y	<i>Enterobacter cloacae</i>		Positivo	60,326	1,56	Negativo	
MSAE14X	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		Negativo	NR	NR	Negativo	
MSAE15X	<i>Escherichia coli</i>		Positivo	20,427	1,56	Negativo	

Lugar de colecta	Subcodificación	Bacterias	Concentración Mínima Inhibitoria de Colistina		Concentración ADN (ng/μl)	Absorbancia 260/280	Gen mcr-1
			= 4 μg/ml	< 4 μg/ml			
Basural Mercado El Edén	MSAE16X	<i>Escherichia coli</i>	Positivo		85,173	1,31	Negativo
	MSAE17X	<i>Proteus mirabilis</i>		Positivo	60,353	1,41	Negativo
	MSAE18X	<i>Proteus mirabilis</i>		Positivo	54,153	1,97	Negativo
	MSAE19X	<i>Enterobacter aerogenes</i>		Positivo	56,129	1,94	Negativo
	MSAE20X	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo		37,422	1,87	Negativo
	MSAE20Y	<i>Proteus mirabilis</i>		Positivo	20,195	1,13	Negativo
	MSAE21X	<i>Citrobacter Braakii</i>	Positivo		10,008	1,89	Negativo
	MSAE21Y	<i>Enterobacter aerogenes</i>		Negativo	NR	NR	Negativo
	MSAE22X	<i>Escherichia coli</i>		Positivo	46,082	1,54	Negativo
	MSAE23X	<i>Burkholderia cepacia</i>		Positivo	10,006	1,56	Negativo
	MSAU24X	<i>Burkholderia cepacia</i>		Positivo	74,111	1,24	Negativo
	MSAE25X	<i>Acinetobacter baumannii</i>		Positivo	42,220	1,92	Negativo
	MSAE26X	<i>Proteus mirabilis</i>		Positivo	53,961	1,56	Negativo
	MSAU27X	<i>Escherichia coli</i>		Positivo	14,666	1,98	Negativo
	MSAU28X	<i>Proteus vulgaris</i>		Positivo	47,330	1,50	Negativo
	MSAU29X	<i>Enterobacter aerogenes</i>		Positivo	36,968	1,30	Negativo
	MSAE30X	<i>Escherichia coli</i>		Positivo	44,550	1,30	Negativo

Nota: NR: No realizado.